

Aus der II. Inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Neukölln
Berlin-Neukölln
Dirigierende Ärztin: Professor Dr. med. I. Boll

PHASENKONTRASTMIKROSKOPISCHE
VERLAUFSBEOBACHTUNGEN IN VITRO
AN HUMANEN ZELLEN MIT GROBEN
GRANULA

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Herzog
aus München

1976

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Neukölln
Berlin-Neukölln

Dirigierende Ärztin: Prof. Dr. med. I. Boll

PHASENKONTRASTMIKROSKOPISCHE
VERLAUFSBEOBACHTUNGEN IN VITRO
AN HUMANEN ZELLEN MIT GROBEN
GRANULA

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Herzog
aus München

Referent: Prof. Dr. med. I. Boll

Korreferent: Prof. Dr. med. E. Wüstenfeld



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 18.5.1976

A.	Einleitung und Fragestellung	1
B.	Material und Methode	5
C.	Ergebnisse	10
	I. <u>grobe Granula</u>	10
	a. optische Eigenschaften	10
	b. Synthese	12
	α . spontan	14
	β . durch Phagocytose praeformierter Granula	16
	γ . durch immunologischen Reiz	16
	II. <u>Morphologie und Lokalisation verschiedener Differenzierungsstufen der Zellen mit groben Granula</u>	24
	1. Knochenmark	24
	a. Stammzellen	
	α . Mitose	
	b. granulopoetische Vorstufen	32
	c. grob granulierte Zellen	37
	d. Promonocyten und monocytäre Zellen	39
	e. Retikulumzellen	45
	2. Blut	45
	a. Stammzellen	45
	b. grob granulierte Zellen	47
	3. Gewebe (Pleura, Ascites, Hautfenster)	47
	a. grob granulierte Zellen und grob gran. monocytäre Zellen	47
	b. Mesothelzellen	50
	III. <u>Kinetik und Funktion der Zellen mit groben Granula</u>	53
	a. Lokomotion	53
	b. Endocytose, Exocytose	58
D.	Diskussion	64
E.	Zusammenfassung	78
F.	Literaturverzeichnis	80 - 88



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. Einleitung und Fragestellung

In seiner Veröffentlichung von 1879 bezeichnete Paul EHRLICH (26) granulierten Zellen als "Mastzellen", da er sie "als Produkte der Mästung der Bindegewebszellen" ansah. Dann wurde von ihm diese Bezeichnung nur noch ausschließlich für Leukocyten mit basophiler ("γ") Granulation angewandt. Später erfolgte von EHRLICH aufgrund histochemischer Befunde und entsprechend ihrem Vorkommen eine Unterteilung in Blutbasophile und Gewebsmastzellen (zit. nach RIND 1963).

Während von EHRLICH und WESTPHAL die Ansicht vertreten wurde, daß es sich bei Mastzellen "um eine in besonderer Weise metamorphosierte fixe Bindegewebszelle" handle (zit. bei MAXIMOW 1904), wurde 1896 von AUDRY (zit. bei MICHELS 1938) geäußert, daß Mastzellen von allen Elementen des Bindegewebes, also von fixen Zellen, Lymphocyten, großen mononukleären Zellen, Leukocyten, Wanderzellen und Plasmazellen, abstammen könnten. 1904 schrieb MAXIMOW (41), daß er es für möglich halte, daß die Klastocyten, die Plasmazellen, die Polyblasten und Mastzellen des Gewebes alle einem einzigen Zellstamm angehörten und unter Umständen ineinander übergehen können. Etwas später, 1913, (zit. nach SELYE, 1965), wurden dann von ihm im Knochenmark der Ratte mögliche Übergangsformen zwischen Gewebsmast-

zellen und "Mast-Myelocyten" beschrieben. Etwa zur gleichen Zeit beobachtete WEIDENREICH (77) im menschlichen Thymus transitorische Zelltypen zwischen Mastzellen und "Thymocyten" und folgerte, daß aus letzteren Mastzellen entstehen können. Auch von DOWNEY (25) wurde 1913 vermutet, daß andere Zellen sich in Mastzellen transformieren können, indem langsam metachromatische Granula entstehen. Etwa zehn Jahre später (1927) wurde von W. von MÖLLENDORFF (zit. nach Michels 1938) im Zusammenhang mit der Entstehung von Mastzellen auf deren nahe Verwandtschaft zu Monocyten und Makrophagen verwiesen.

In der Folgezeit wurde das Vorkommen von Gewebsmastzellen im Knochenmark, wie es MAXIMOW zuerst beobachtet hatte, von anderen Untersuchern für das menschliche Knochenmark unter physiologischen Bedingungen (43, 75), häufiger jedoch unter pathologischen Umständen (u.a. 35, 62, 70), bestätigt und kann heutzutage als gesichert angesehen werden. Hingegen ist die Herkunft der Gewebsmastzellen noch umstritten. Während SCHAUER (63) bei seinen Gewebeuntersuchungen an Ratten und Mäusen zu dem Ergebnis kommt, daß sich Gewebsmastzellen durch Abschnürung undifferenzierter Zellen des Kapillarmesenchyms entwickeln, und die Umdifferenzierung anderer Zellen des Bindegewebes zu Mastzellen ablehnt, hat in jüngster Zeit die bereits 1937 von MICHELS (45) postulierte Umwandlung von Lymphocyten

und Histiocyten in Mastzellen wieder an Aktualität gewonnen. So wurde 1963 von GINSBERG (31) in vitro die Differenzierung zu Mastzellen in Kulturen von Mäuse-Thymus-Zellen beschrieben. BURTON (18) konnte 1966 mittels Lebendbeobachtung nachweisen, daß die Entstehung von Mastzellen in Kulturen von Bindegewebe oder peritonealer Flüssigkeit der Ratte induzierbar ist. Aufgrund seiner Untersuchungen wurde von ihm erneut die Möglichkeit der Mastzellentstehung aus Monocyten und Makrophagen zur Diskussion gestellt. Durch die Arbeiten von THIEDE (73) und MÜLLER-HERMELINK (46) wurde die monocytogene Gewebemastzellentstehung bei der Ratte inzwischen lichtmikroskopisch, cytochemisch und ultrastrukturell bestätigt. Da auch die einzelnen Reifungsstufen der Monocytopoese vom mesenchymalen Stammzellspeicher über Promonocyten zum Monocyten bis hin zum Makrophagen und Histiocyten im Gewebe bewiesen sind (13,16,30,39,44), sollen nun Beweispunkte für Transformationsschritte der monopoetischen Entwicklungsstufen zu Mastzellen erbracht werden.

Die Lebendbeobachtung im Phasenkontrastverfahren, kombiniert mit einer kinematographischen Dokumentation mit Zeitrafferkamera, erlaubt die Betrachtung der Aufzeichnungen im Laufbild und Teilbild. So können metrische Angaben über die Zelldimensionen und die Kinetik der Zellen gemacht werden (47). Wegen der fehlenden Auswande-

rungsmöglichkeiten der Zellen aus der Kultur, kann im Gegensatz zu den In-vivo-Beobachtungen eine mögliche Umwandlung zu Makrophagen oder Histiocyten verfolgt werden. Diese Entwicklung ist von besonderem Interesse, da nach UNDRITZ (75) "Gewebsbasophile" nach ihrer Lokalisation entweder histiocytär oder blutgängig (indirekt mobil) sein können, je nachdem ob sie im Gewebe frei oder fixiert sind.

Insgesamt ergeben sich somit für die vorliegende Arbeit folgende Fragestellungen, die anhand des zusammengestellten Filmmaterials von Kulturen aus menschlichem Knochenmark, Blut und Gewebe (Pleura, Ascites und Hautfenster) beantwortet werden sollen:

1. Welches sind die morphologischen Charakteristika im Phasenkontrastmikroskop der beobachteten Zellen mit groben Granula?
2. In welchen Zellen kam es während der Beobachtung zur Entwicklung grober Granula?
3. Können die grob granulierten Zellen nach ihrem funktionellen Verhalten und ihrer Verbreitung im Organismus als Elemente des retikulo-histiocytären Systems aufgefaßt werden?
4. Sind für die In-vitro-Entstehung der groben Granulation mögliche Ursachen erkennbar?
5. Kann die in vielen Zellen beobachtete grobe Granulation hinsichtlich ihres optischen Verhaltens, ihres Entstehungsmodus und ihrer Morphe in Bezug zu den bekannten elektronenmikroskopischen und histochemischen Befunden über Mastzellgranula als solche phasenoptisch identifiziert werden?

B. Material und Methode

Den vorliegenden Untersuchungen liegen In-vitro-Beobachtungen von Präparaten zugrunde, die aus Knochenmark, Blut, Ascites- und Pleura-Punktaten und aus einem Hautfenster hergestellt wurden.

Einige Entnahmen (4x Knochenmark und ein Hautfenster) stammten von haematologisch gesunden Patienten. Das übrige Material wurde von Patienten gewonnen, die mit einer allergisch bedingten Leukopenie, Eosinophilie (3x), links verschobener Granulopoese, oder wegen reaktiver Veränderungen der Erythropoese (3x), der Monopoese und des Retikulums (3x) sich in stationärer Behandlung befanden, außerdem von Patienten, die an Anämien unterschiedlicher Genese erkrankt waren, und von zwei Patienten, die wegen eines Banti-Syndroms behandelt wurden. Andere Präparate wurden bei Hyperplasien des retikulo-histiocytären Systems, zum Beispiel bei maligner Retikuloze (3x), Plasmocytom (4x) und Histiocytose (2x) gewonnen.

Weiter gehörten zu dem ausgesuchten Patientengut solche mit Erkrankungen des lymphatischen Systems, davon 5 mit M. Hodgkin.

Außerdem fanden sich grob granulierte Zellen in leukämischen Knochenmark- und Blutproben (eine Erythroleukämie,

eine chronische lymphatische Leukämie, acht Monoblasten Leuk., eine Monocyten-Leuk., zwei Myeloblasten-Promyelo-
cyten-Leuk., eine chronische Myelose und zwei Panmyelo-
pathien). Die Ascites-Punktate wurden von Geschwulst-
kranken und einmal bei benignen Ovarial-Tumor gewonnen.
Für die Betrachtung der Lebensvorgänge der Zellen im
Phasenkontrastmikroskop wurden Koagulumkulturen nach der
von BOLL (9) modifizierten Carrel'schen Deckglasmethode
am "hängenden Tropfen" aus folgendem Kulturmedium
hergestellt:

50 % Nativ-Plasma des Knochenmark-Spenders

40 % Serum des Knochenmark-Spenders

10 % Corrhormon^R (dreifach konzentriertes Präparat
der Chemiwerke Homburg)

Zu dem auf einem normalen Objektträger koagulierten
Mediumtropfen werden Knochenmarkbröckchen hinzugesetzt
und mit einem Tropfen isologen Serum bedeckt. Der so prä-
parierte Objektträger wird mit einem Hohlschliffobjekt-
träger abgedeckt, mit Paraffin umrandet und im "hängen-
den Tropfen" bei 37°C inkubiert.

Die Lebendbeobachtung erfolgt durch Umsetzung der am
"hängenden Tropfen" gewonnenen Zellkultur in der nach
BOLL (7) entwickelten "platten Kultur". Dazu wird auf
einem mit dem beschriebenen Kulturmilieu beschichteten

Objektträger o h n e Hohlslchliff die zu untersuchen-
den Zellen in einer möglichst dünnen und überwiegend
flüssigkeitsfreien Schicht ausgezogen. Die Koagula
müssen für die Lebendbeobachtung auf dem Objektträger
sehr flach ausgezogen sein, da sich die Strukturen um
so besser darstellen, je niedriger die planparallele
Kammer und je dünner das abschließende Deckgläschen
ist (9). Unter sanftem Druck wird das Präparat mit dem
Deckglas abgedeckt und der Kammerinhalt durch Paraffin-
umrandung gegen Verdunstung geschützt.

Die Zellen in der "platten Kultur" sind bei 37°C Stunden bis
Tage lebensfähig und können im Wärmemikroskop mit einer
Phasenkontrasteinrichtung beobachtet werden. Zur Verwendung
kommen Phasenkontrastmikroskope der Firmen Zeiss (Opton-
Gerät, Standard WL-Gerät) und Leitz (Laborlux) mit 70- und
100-fachen Ölimmersionsobjektiven. Kondensor der Einrich-
tung ist der achromatische-aplanatische Hellfeld-Phasen-
kontrast-Kondensor VZ, der eine Betrachtung im positiven
Phasenkontrast ermöglicht. Als Beleuchtung dienen Nieder-
voltlampen mit Wärmeschutz-Grünfilter.

Zur Dokumentation der beobachteten Lebensvorgänge der
Zellen werden Aufsatzkameras Bolex H16 Reflex-Kamera und
Photozelle zur Belichtungsmessung benutzt (automatische
Belichtung 1/4-1/2 Sekunde), die über eine Zeitrafferein-
richtung (Fa. Kindervater Berlin-Neukölln) geschaltet sind.

Je nach Aktivität der untersuchten Zellen werden Aufnahmen pro 1-10-15-20 Sekunden gemacht. Es werden 16 mm schwarz-weiß Negativ-Filme verwendet. Verwertbare Negativfilme werden auf Positivfilme umkopiert und Papiervergrößerungen hergestellt. Die angefertigten Fotos werden alle auf den gleichen Maßstab von 2 cm = 10 μ m gebracht.

Die Betrachtung der Positivfilme erfolgt mit einem HKS-Filmbildbetrachter (Fa. Hühnemörder Esslingen). Auf dem Bildschirm erscheint das 16 mm Bild linear 10-fach vergrößert. Zur Beurteilung der kinetischen Zellvorgänge wird der Film im Laufbild (Durchlaufgeschwindigkeit von Hand gesteuert) betrachtet. Bei der Teilbildanalyse werden einzelne Bilder durchgemustert. Eine Bildzähleinrichtung, die in dem Aufnahmeprotokoll notierten Aufnahmeintervalle und ein mitgefilmter Maßstab erlauben die Errechnung der tatsächlichen zeitlichen Abläufe und Größenmessungen. Dazu kann vor die Betrachtungsfläche ein Papier befestigt werden und die charakteristische Zell-, Kern- und Granulagröße durchgepaust werden. Für die Verlaufsmessungen wird kein willkürlich festgesetzter Bildabstand gewählt, sondern nur Aufnahmen mit scharf abgebildeten Objekten verwendet. Durch Planimetrie (3 mal pro Objekt) und maßstabsgerechter Umrechnung können die Dimensionen dieser Strukturen berechnet werden. Obwohl Kerne und kleine Teile scharf abgebildet werden, sind exakte Größenmessungen nach RIND(61) mit dem Phasenkontrastmikroskop für Zellen allerdings nicht

möglich, da infolge der Halo-Bildung die Zellen kleiner erscheinen, weil ihre tatsächliche Zellgrenze innerhalb des Lichthofes liegt und nicht sichtbar ist. Außerdem müssen nach BOLL (8) für Rückschlüsse aus planimetrischen Messungen auf die Zellgrößen Zellen während der Interkinese von denen während der Mitose streng unterschieden werden. Da nur Zellen während der Mitose Kugelform annehmen, die Ruhezellen im halbflüssigen Medium hingegen ausgebreitet sind, wurden volumetrische Berechnungen nicht durchgeführt, sondern nur die Zell- und Kernfläche bestimmt.

C. Ergebnisse

I. grobe Granula

Das Vorhandensein beziehungsweise die Entstehung von groben Granula in den in vitro überlebenden Zellen aus menschlichem Knochenmark, Blut, Pleura, Ascites und aus einem Hautfenster wurde anhand von phasenkontrastmikroskopischen Verlaufsbeobachtungen an 72 Zellen untersucht.

a) optische Eigenschaften

Die Betrachtung, beziehungsweise die kinematographische Aufzeichnung erfolgte im positiven Phasenkontrast. Das heißt: die Zellen und ihre Strukturelemente heben sich in abgestuften Grauwerten von dem hellen Hintergrund ab. Abbildung 1 zeigt eine Stammzelle mit typischer Lichthofbildung an der Zellgrenze. Der phasennegative Zellkern ist von zahlreichen Granula, die teilweise auch das periphere Cytoplasma ausfüllen, überdeckt. Die Granula unterscheiden sich, abgesehen von der Größe, besonders in ihren optischen Eigenschaften. Wenn sie nicht fokussiert sind wie bei a, haben sie eine phasenpositive Randbegrenzung und in der phasennegativen Innenzone befindet sich ein wiederum phasenpositiver Kern. In den Granula b und c ist die Begrenzung ebenfalls phasenpositiv, jedoch zeichnen

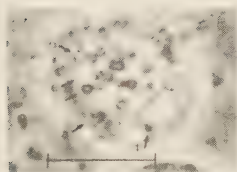


Abb. 1 (Zell-Nr. 5): kleine Stammzelle mit diffus über das Cytocentrum verteilten Granula ($94 \mu\text{m}^2$).

- a) nicht fokussiertes Granulum mit einem im Centrum liegenden phasenpositivem Kern und einem schmalen ebenfalls phasenpositiven Rand.
- b,c) Granulum mit centraler Aufhellung
- d) fast homogen phasenpositives Granulum
- e) Vakuole

Aus Knochenmarkkultur bei monocytärer Reaktion.

16 mm Negativfilm Nr. 96/1208

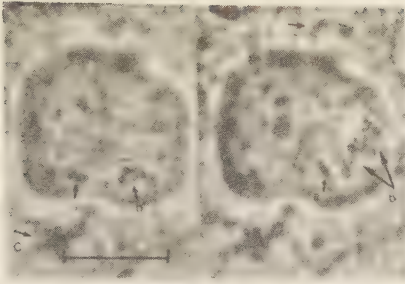
Ölimmersion 100-fach

sich die Zentren durch homogene Phasennegativität aus. Hingegen ist Granulum d ohne zentrale Aufhellung fast vollständig phasenpositiv.

b) Synthese

In Abbildung 2 wird die Genese der Granula in einer Stammzelle über ca. 28 Stunden verfolgt. Als Stammzellen werden Zellen mit einer Kern-Plasma-Relation der Durchmesser von ca. 0,7 zusammengefaßt (12,69), die offensichtlich keine Erythroblasten sind.

Im 1. Teilbild ist an der Konkavseite des Zellkerns im Cytocentrum eine Gruppe sehr kleiner weniger als $0,5 \mu\text{m}$ messender phasenpositiver Partikel zu erkennen, die sich bei der Laufbildanalyse durch lebhaftes Kinetik auszeichnen. Die Granula bewegen sich häufig vom Cytocentrum weg auf Kreisbahnen zwischen Zellkern und Zellperipherie. Nach RIND (61) und BESSIS (6) handelt es sich um Mitochondrien. Davon gut zu unterscheiden sind die ca. $0,5 \mu\text{m}$ großen homogenen phasenpositiven Granula bei a und einige mit centraler Aufzellung bei b. Bei Betrachtung der 16 mm Filme hat man gelegentlich infolge der Zeitraffung den Eindruck, daß diese kleinen Granula "plötzlich" an der Konkavseite des Zellkerns hervorquellen und dann allmählich gegen die Zellperipherie streben und sich vergrößern (2. und 3. Teilbild). Es ist eine Vermehrung und teilweise eine Größenzunahme der Granula auf ca. $1,0 \mu\text{m}$ erfolgt.



1 h

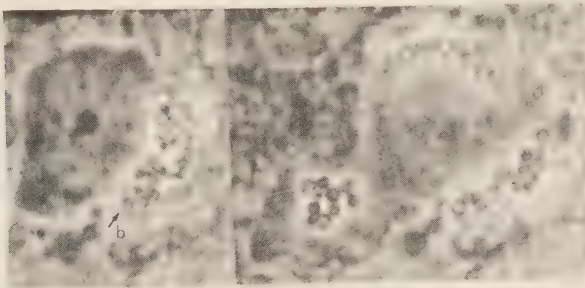
4 1/4 h

Abb. 2

(Zell-Nr. 16): Genese der Granula in einer Stammzelle.

obere Bildreihe: die Zellbegrenzung ist, abgesehen von einzelnen gestielten schwach phasenpositiven Cytoplasmaausläufern (c), glatt. In dem schmalen Cytoplasmasaum im Bereich der Kernbucht (Cytocentrum) weniger als $0,5 \mu\text{m}$ messende phasenpositive Granula (a).

Der scharf begrenzte, excentrisch liegende nierenförmige Zellkern mit deutlich ausgeprägten Kernkörperchen.



7 1/4 h

27 3/4 h

untere Bildreihe: Zunahme der $0,5 - 1,0 \mu\text{m}$ großen überwiegend central aufgehellten Granula (b). Im 4. Teilbild sind die nunmehr bis zu $1,5 \mu\text{m}$ messenden Granula über die Peripherie der stark ausgebreiteten Zelle verteilt.

Aus Knochenmarkkultur bei malign. Retikuloze. Gesamtbeobachtung ca. 28 Stunden.

16 mm Negativfilm Nr. 70/764 Ölimmersion 100-fach

Im 4. Teilbild ist die Peripherie der ausgebreiteten Zelle mit Granula von unterschiedlicher Größe ($0,5 - 1,5 \mu\text{m}$) und von den oben beschriebenen variierenden optischen Eigenschaften umsäumt. Die Motilität dieser Zellorganellen ist unkoordiniert und scheint passiv bei Veränderungen der Zellkontur zu erfolgen.

a) spontan

Wie aus Tabelle 1a Seite 20 ersichtlich, sind die groben Granula in 15 Stammzellen (50 %) der Knochenmark- und Blutproben gleich nach der Entnahme vorhanden. Bei den übrigen 15 Stammzellen (50 %) entstehen sie während der Beobachtungen. Bei Zellen anderer Differenzierungsstufen (Tabelle 2a, Seite 28) sind sie in 34 Zellen (81 %) bei Beobachtungsbeginn nachweisbar, und in 8 Zellen (19 %) entstehen sie während der kinematografischen Aufzeichnung.

Eine Ursache für die Entstehung der Granula ist selten erkennbar. In einigen Fällen scheinen sich diese jedoch bevorzugt bei lebhafter Pinocytose- und Phagocytoseaktivität der Zelle zu bilden. Während der Beobachtungsdauer von 42 Minuten bis 105 Stunden für Stammzellen und 30 Minuten bis 102 Stunden für Zellen anderer Differenzierungsstufen bleiben die vitalen Lebenserscheinungen wie Zellwachstum, Motilität, Pinocytose und Phagocytose oft über viele Stunden erhalten, bevor die Zellen aus dem Gesichtsfeld verloren gegangen sind oder Absterbeerscheinungen zum Kulturabbruch zwingen.

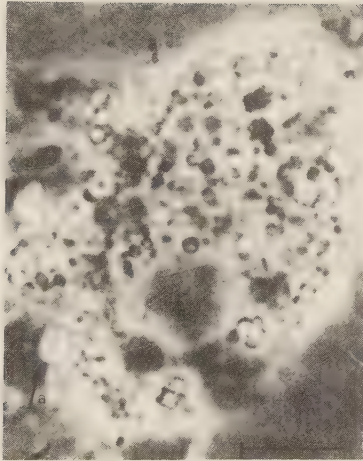


Abb. 3: Riesenphagocyt ($614 \mu\text{m}^2$)

Im Cytoplasma neben zahlreichen groben Granula unterschiedlicher Größe und aller phasenoptischer Schattierungen, Vakuolen (a) und Phagosome polymorpher Natur.

Aus Knochenmarkkultur bei akuter Monoblasten Leukämie.

16 mm Negativfilm Nr. 209/2070. Ölimmersion 100-fach

β) durch Phagocytose praeformierter Granula

Grobe Granula können jedoch auch durch Phagocytose, wie in Abbildung 3 in einem $614 \mu\text{m}^2$ großen Makrophagen, gelangen. Neben zahlreichen Fremdeinschlüssen sind über das ganze Cytoplasma unregelmäßig verteilt grobe Granula in allen phasenoptischen Schattierungen vorhanden.

γ) durch immunologischen Reiz

Bei zwei Zellen granulopoetischer Vorstufen führte die unmittelbare Berührung mit einem Erythrocyten zur Bildung grober Granula. So konnte bei einer 6-stündigen Beobachtung eines neutrophil granulierten Myelocyten (Zell-Nr. 34 der Tabelle 2a, 2b, S. 28, 29), der einen Erythrocyten phagocytierte und nach ca. 26 Minuten wieder ausstieß, anschließend die Bildung grober Granula verfolgt werden. Abbildung 4 zeigt die deutliche Zunahme der $0,5-1,0 \mu\text{m}$ großen Granula, die sich gegen Ende der Betrachtung, während der sich die Zelle zum Myelocyten entwickelt, über die Peripherie verteilt haben.

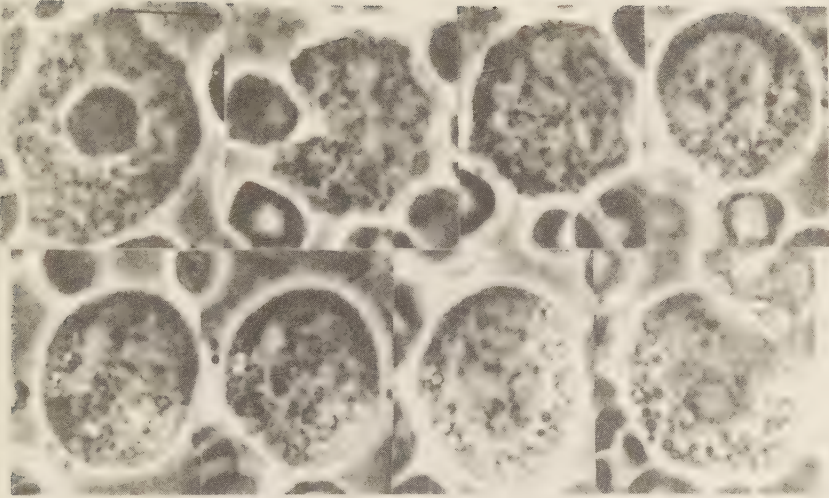


Abb. 4 (Zell-Nr. 34): Entstehung einer groben Granulation in einem neutrophil granulierten Myelocyten nach Erythrocytenphagocytose.

obere Bildreihe: im 1. Teilbild im Centrum des neutrophil gr. Promyelocyten der phagocytierte Erythrocyt, der nach 26 Minuten (2. Teilbild) wieder ausgestoßen wird.

untere Bildreihe: deutliche Zunahme der groben Granula (0,5-1,0 μ m), die am Beobachtungsende überwiegend phasenpositiv getönt sind. Die Zelle ist zum grob granulierten Myelocyten herangereift.

Gesamtbeobachtungsdauer ca. 6 Stunden.

Aus Knochenmarkkultur bei Infektanämie. 16 mm Negativfilm Nr. 257/1151

Ölimmersion 100-fach. Nach BOLL/AUST (11)

In Abbildung 5 gelang die Dokumentation einer Transformation eines zu Beginn eosinophil granulierten Myelocyten zu einem gemischt grob granulierten Myelocyten. Am Anfang der ca. 50-stündigen Beobachtung ist in Kernnähe ein Fremdkörpereinschluß zu erkennen, der gegen Ende der Kulturbetrachtung nicht mehr nachweisbar ist. Bald nach Beobachtungsbeginn erfolgt ein inniger Kontakt des eosinophil granulierten Myelocyten mit einem Erythrocyten, aber keine Phagocytose. Die Zelle wächst von anfänglich $201,1 \mu\text{m}^2$ auf $269,1 \mu\text{m}^2$ (Kernwachstum von $44,2 \mu\text{m}^2$ auf $58,7 \mu\text{m}^2$) und ist am Ende der Filmaufzeichnung überwiegend mit $1,5 \mu\text{m}$ großen Granula gefüllt, die von den unregelmäßig geformten kleineren eosinophilen Granula gut zu unterscheiden sind.

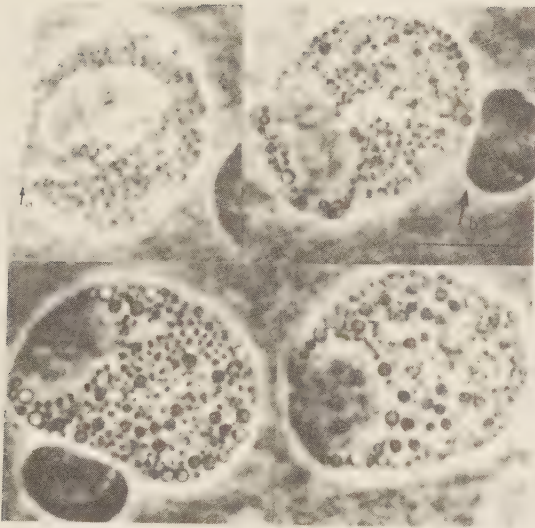


Abb. 5: Entstehung einer groben Granulation in einem eosinophil granulierten Myelocyten mit Zelleinschluß nach Kontakt mit einem Erythrocyten.

- a) Fremdkörpereinschluß
- b) Erythrocyt hat innigen Kontakt zu dem Eosinophilen, der während der ca. 50-stündigen Beobachtung einige bis zu $1,0\text{ }\mu\text{m}$ messende grobe Granula bildet.

Aus Knochenmarkkultur bei M. Hodgkin.

16 mm Negativfilm Nr. 147/1512 Ölimmersion 100-fach
Nach BOLL/AUST (11)

Tabelle 1 a

Messergebnisse der phasenkontrastmikroskopischen Verlaufsbeobachtungen an Stammzellen mit groben Granula aus Knochenmark- und Blutkulturen

Zell- Num- mer	Archiv- Nummer	D i a g n o s e	Ort der Material- entnahme	Granula bei Beob- achtungs- beginn vorhan- nicht den vorh.	Beob- ach- tungs- dauer	Bewe- gungs- typ	Geschwin- digkeit [µm/min]
1	158/2101	Banti Syndrom	"	+	2 h 33'	I	-
2	158/2303/5	Banti Syndrom	"	+	5 h 33'	II	-
3	229/2255	Pannyeleopathie	"	+	2 h 58'	II	-
4	66/902	Polyarthrit	"	+	12 h 44'	I	-
5	96/1208	monocyt.Reaktion	"	+	3 h 25'	II	-
6	77/731	ly.Kn.Erkrankung	"	+	2 h 12'	III	5,1
7	77/695	li.verschob.Granulop.	"	+	22 h	III	8,82
8	266/2401	Monobl. Leukämie	"	+	51 h	II	-
9	159/1717	Plasmocyt.	"	+	1 h 20'	II	-
10	266/2478	Monobl. Leukämie	"	+	31 h 40'	II	-
11	229/2210	normal	"	+	2 h	II	-
12	276/2553	Monobl. Leukämie	"	+	105 h 30'	II	-
13	229/2210	sidero. Anämie	"	+	7 h 5'	III	1,65
14	42/1953	Anämie	"	+	3 h 30'	III	1,27
15	66/932	angergt.Retikulum	"	+	7 h 6'	I	-
16	70/764/68	malign. Retikolose	"	+	24 h 52'	II	-
17	264/878	M. Hodgkin	"	+	20 h 26'	II	-
18	42/415	Eosinophilie	"	+	5 h 34'	III	4,0
19	174/1907	Pancytopenie	"	+	14 h 24'	II	-
20	Tochterz.A			+		I	-
21	Tochterz.B			+		I	-
22	42/1886	Plasmocytom	"	+	9 h 47'	I	-
23	42/587	Eosinophilie	"	+	5 h 42'	I	-
24	159/1781	Plasmocytom	"	+	9 h 7'	III	0,14
25	123/1151	angergt.Erythropoese	"	+	4 h 56'	II	-
26	189/673/5	entzündl. Milz	"	+	42'	I	-
27	220/2013	hämolyt. Anämie	"	+	9 h 40'	III	8,4
28	129/1566	Monobl. Leukämie	Blut	+	3 h	III	8,8
29	188/2027	ak. Leukämie	"	+	11 h 30'	II	-
30	275/2184	Monocyt. Leukämie	"	+	55 h	I	$\bar{x}:4,8$

Tabelle 1 b Messergebnisse der phasenkontrastmikroskopischen Verlaufsbeobachtungen an Stammzellen mit groben Granula aus Knochenmark- und Blutkulturen

Zell- Num- mer	Z e l l e			Durchmesser [μm] mittlerer (errechnet)			errechnete Fläche [μm^2]			K e r n		
	errechnete Fläche [μm^2]									errechneter Durchmesser [μm]		
	Anfang	Ende	mittlere	Anfang	Ende	mittlere	Anfang	Ende	mittlere	Anfang	Ende	mittlerer
1	69,5	75	73,5	22,2	31,0	27	5,32	6,28	5,86			
2	88,5	101	94,8	26,8	38,3	31,7	5,82	6,98	6,38			
3	116	118,8	104,8	46,7	48,6	38	7,68	7,88	7,64			
4	96,5	82	87,4	58,5	30,5	42,6	8,62	6,24	7,42			
5	94	104	99,5	36,8	53,5	43,3	6,84	8,26	7,3			
6	95,4	115	112,8	35,5	36	42	6,72	6,8	7,72			
7	105	140	129	63,5	71,2	62,4	9,0	9,42	8,72			
8	unverändert	127,7	127,7	unverändert			-	-	8,5			
9	98	113	114	46,5	69	66,6	7,7	9,38	9,18			
10	115,9	134,6	125,2	48,3	69	58,7	7,8	9,4	8,6			
11	151,8	166	153,7	51,6	56,8	50,2	8,1	8,48	8,0			
12	120,8	222,5	171,7	55,2	85,2	70,2	8,4	10,4	9,5			
13	105	155	126	39,8	45,0	51,7	7,12	7,28	8,1			
14	131	134	134,8	47	52,5	52,2	7,74	8,14	8,7			
15	114	137	118	53,6	72,2	59,4	8,26	9,6	9,3			
16	116	295	202	65,5	57,5	68	9,12	8,54	9,38			
17	168	252	201	64	72	69,1	9,06	9,6	9,38			
18	145	137	146,5	82	68,7	73,1	10,24	9,34	9,64			
19	150	205	172	96,5	97	91,6	11,02	11,10	10,8			
20	118	125	121	82,5	62	72,2	10,25	8,89	9,59			
21	118	88	103	52,4	57	54,7	8,17	8,52	8,35			
22	204	244	234	88	98	92,4	10,6	11,16	10,88			
23	178	235	207,8	109	76,5	100,5	11,8	9,6	10,28			
24	179	179,3	188,3	72,5	62,5	76,7	9,6	8,94	9,86			
25	206	198	199	125	97	108	12,62	11,14	11,72			
26	218,9	280,5	247,8	77,5	112,3	91,8	9,93	11,9	10,8			
27	unscharf			unverändert			-	-	6,3			
28	unverändert	56,4	8,4	unverändert			-	-	7,4			
29	unverändert	81,7	10,2	unverändert			-	-	8,1			
30	96	105	100,5	48	54	51	7,8	8,3				

Für die Zelle Nr. 27 konnte nur die Fortbewegungsgeschwindigkeit ausgewertet werden.

Tabelle I c

Messergebnisse der phasenkontrastmikroskopischen Verlaufsbeobachtungen an Stammzellen mit groben Granula aus Knochenmark- und Blutkulturen

Zellnummer	mittlere Kern-Plasma-Relation der Fläche	des Durchmessers
1	0,37	0,60
2	0,37	0,59
3	0,36	0,60
4	0,48	0,73
5	0,43	0,66
6	0,37	0,61
7	0,49	0,68
8	0,45	0,66
9	0,57	0,76
10	0,47	0,66
11	0,33	0,57
12	0,40	0,64
13	0,41	0,64
14	0,38	0,67
15	0,51	0,71
16	0,35	0,58
17	0,35	0,58
18	0,50	0,71
19	0,50	0,73
20	0,59	0,77
21	0,53	0,72
22	0,38	0,63
23	0,50	0,63
24	0,41	0,64
25	0,54	0,74
26	0,37	0,60
27	unscharf	
28	0,54	0,75
29	0,52	0,72
30	0,51	0,72

Tabelle I d

Prozentualer Anteil der Stammzellen mit groben Granula aus Knochenmark- und Blutkulturen an den Kernklassen nach Leibetseder (40)

Kernklasse	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	1	2
Kerndurchmesser [μm]	5,1 -5,9	6,0 -7,2	7,3 -9,2	9,3 -11,5	11,4 -14,4
Beobachtungs- anfang	6,9	13,8	44,8	27,6	6,9 % = 100,0%
Beobachtungs- ende	-	20,7	37,9	34,5	6,9 % = 100,0%

Tabelle I e

Mittelwerte der Stammzellen mit groben Granula errechnet
aus den Planimeterergebnissen der Tabellen Ia - Ic.

Zell- Num- mer	Z e l l e		K e r n		Kern-Plasma- Relation	
Fläche	1-30	Anfang	$\bar{x}$: 126,3 μm^2	$\bar{s}$: 41,2 μm^2	$\bar{x}$: 59,5 μm^2	$\bar{s}$: 24,2 μm^2
		Ende	$\bar{x}$: 151,9 μm^2	$\bar{s}$: 64,2 μm^2	$\bar{x}$: 62,2 μm^2	$\bar{s}$: 21,3 μm^2
		mittlere	$\bar{x}$: 139,1 μm^2	$\bar{s}$: 50,7 μm^2	$\bar{x}$: 61,2 μm^2	$\bar{s}$: 21,2 μm^2
					$\bar{x}$: 0,45	$\bar{s}$: 0,08
		Wachstum ⁺)	20,3 %	Wachstum ⁺)		4,5 %
Durchmesser	1-30	mittlerer $\bar{x}$:	13,1 μm	$\bar{s}$: 2,3 μm	$\bar{x}$: 8,7 μm	$\bar{s}$: 1,4 μm
					$\bar{x}$: 0,66	$\bar{s}$: 0,06

$\bar{x}$ = Mittelwert

$\bar{s}$ = Standardabweichung

⁺) Bei einer Beobachtungsdauer von 42' bis ca. 105^h

II. Morphologie und Lokalisation verschiedener

Differenzierungsstufen der Zellen mit groben Granula

1. Knochenmark

a. Stammzellen

In den Tabellen 1a - 1e sind die Untersuchungsergebnisse der kinematographischen Dokumentation von 27 Stammzellen (Zell-Nr. 1-27) mit groben Granula aus Knochenmarkkulturen, die von 42 Minuten bis 105 Stunden in vitro beobachtet wurden, zusammengestellt. Die Stammzellen (Abbildung 1,2) haben im Ruhestadium eine runde Form mit regelmäßiger Zellbegrenzung. Der schmale Cytoplasmasaum hat meistens ein deutlich sichtbares Cytocentrum, welches von der sehr feinen, azurophilen Granulation ausgespart ist. Neben den groben Granula lassen sich die bereits erwähnten Mitochondrien erkennen. Der große scharf begrenzte Zellkern kann gelappt oder nierenförmig (dann excentrisch liegend) geformt sein. In dem grobscholligen Chromatingerüst finden sich immer 1-3 Nukleoli. Die Zellen zeigen eine starke Tendenz zur Ausbreitung (Abbildung 2 letztes Teilbild).

Der errechnete Zellflächenmittelwert der Stammzellen beträgt $\bar{x}: 139,1 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}: 50,7 \mu\text{m}^2$) bei einem errechneten mittleren Zelldurchmesser von $\bar{x}: 13,1 \mu\text{m}$ ($\bar{s}: 2,3 \mu\text{m}$).

Bildet man jeweils den Quotienten aus errechneter Kern- und Zellfläche, so ergibt sich eine mittlere Kern-Plasma-Relation (KPR) der Flächen von $\bar{x}$: 0,45 ($\bar{s}$: 0,08).

Die Berechnung der Kernflächen der Stammzellen ergibt einen Mittelwert von $\bar{x}$: 61,2 μm^2 ($\bar{s}$: 21,2 μm^2). Zur Berechnung der KPR der Durchmesser wurde wie oben verfahren, indem jeweils der Quotient aus dem errechneten Kern- und Zelldurchmesser gebildet wurde. Aus den Einzelergebnissen ergibt sich eine mittlere KPR der Durchmesser von $\bar{x}$: 0,66 ($\bar{s}$: 0,06).

Vergleicht man die errechneten Anfangswerte der Kern- und Zellflächen mit denen der errechneten Werte vom Beobachtungs-ende, so fällt auf, daß sich die Kernflächen nur um 4,5 % vergrößerten, die Zellflächen jedoch während des gleichen Beobachtungszeitraumes um 20,3 % zunahmen.

Der errechnete mittlere Kerndurchmesser beträgt $\bar{x}$: 8,7 μm ($\bar{s}$: 1,4 μm) (Tabelle 1e, S. 23). Zur besseren Übersicht wurden jedoch die errechneten Anfangs- und Endwerte der Kerndurchmesser der Stammzellen aus den Knochenmark- und Blutkulturen der Einteilung der Kernklassen nach LEIBTSEDER (40) zugeordnet. In der Tabelle 1 d, Seite 22, wurde der prozentuale Anteil an den entsprechenden Kernklassen aufgetragen. Es ist zu erkennen, daß zu Beobachtungsbeginn 72,2 % der Stammzellen den Kernklassen $K \frac{1}{2}$ (44,7 %) und $K 1$ (27,5 %) angehören.

Während der Beobachtung sind jeweils 6,9 % der Stammzellen von $K \frac{1}{8}$ auf $K \frac{1}{4}$ und von $K \frac{1}{2}$ auf $K 1$ angewachsen. Auf die Kernklasse $K 2$ entfielen 6,9 % der Stammzellen ($n=2$).

α . Mitose

Bei einer Knochenmarkkultur (Zell-Nr. 19 der Tabellen 1a, 1b, 1c) kommt es nach ca. 9,5-stündiger Beobachtung einer grob granulierten Stammzelle zur Mitose. Die groben Granula sind auf die zwei ins Bild kommenden Tochterzellen (Zell-Nr. 20, 21) verteilt, die noch ungefähr 5 Stunden gefilmt werden. Voluminaberechnungen der abgekugelten Zelle in und kurz nach der Mitose sind wegen technischer Mängel der Filmbilder nicht möglich gewesen. Die planimetrierten Flächenwerte (Cytoplasma und Kern) der beiden Tochterzellen mußten daher an den wieder ausgebreiteten Zellen durchgeführt werden, so daß die zu erwartende Übereinstimmung der Summe aus den Meßergebnissen von Mutter- und Tochterzellen (9) nicht nachgewiesen werden konnte. Nur die Kernklasse K 1 der Mutterzelle entsprachen in Annäherung $2 \times K \frac{1}{2}$ der Tochterzellen.

Tabelle 2 a

Messergebnisse der phasenkontrastmikroskopischen
Verlaufsbeobachtungen an Zellen mit groben Granula
unterschiedlicher Differenzierungsstufen

Zell- Num- mer	Archiv- Nummer	D i a g n o s e	Ort der Material- entnahme	Zellart	Granula bei Beobachtungs- beginn <u>vorhanden nicht vorh.</u>	Beobachtungs- dauer
31	190/1840	Erythroleukämie	Knochenmark	Promyelocyt	+	8 h 41'
32	256/2588	Erythroleukämie	"	"	+	23 h
33	75/738	Anämie	"	Myelocyt	+	3 h 18'
34	257/1151	Infektanämie	"	"	+	10 h 42'
35	89/2355	chron. lymph. Leuk.	"	"	+	6 h 6'
36	89/1909	normal	"	"	+	7 h 7'
37	257/1714	Eisenmangelanämie	"	Metamyelocyt	+	7 h 34'
38	89/1747	normal	"	grob gr. Stabkern. grob granulierten Zelle	+	7 h 16'
39	42/541	Retikuloze	"	"	+	3 h
40	89/504	entzündl. KM	"	"	+	22 h
41	94/861	Plasmocytom	"	"	+	16 h
42	264/883	Retikuloze	"	"	+	19 h 10'
43	264/2492	Histiocytose	"	"	+	1 h
44	264/2491	Histiocytose	"	"	+	3 h
45	89/1312	angereg. Retikulum	"	"	+	5 h 20'
46	89/1360	angereg. Erythrop.	"	"	+	5 h 23'
47	89/1576	Eosinophilie	"	"	+	37 h 25'
48	275/2174	Monocyt.-Leukämie	Blut	"	+	9 h 30'
49	23/2282	Erythroleukämie	"	"	+	51 h
50	266/2481	Monobl.-Leukämie	Knochenmark	Promonocyt	+	62 h
51	211/1168	Monobl.-Leukämie	"	"	+	32 h 30'
52	256/2588	neph. Anämie	"	"	+	4 h 38'
53	209/2060	Monobl.-Leukämie	"	monocytaire grob granulierten Zelle	+	5 h 9'
54	266/2474	Monobl.-Leukämie	"	"	+	6 h
55	193/1869	Myelobl.-Leukämie	"	"	+	5 h 35'
56	88/993	leuk. Lymphoretik.	"	"	+	19 h 40'
57	97/1556	Anämie	"	"	+	6 h 5'
58	97/2112	angereg. Erythrop.	"	"	+	39 h
59	241/2246	allerg. Leukopenie	"	"	+	24 h 20'
60	256/2589	M. Hodgkin	"	"	+	

Tabelle 2 a (Fortsetzung)
Messergebnisse der phasenkontrastmikroskopischen
Verlaufsbeobachtungen an Zellen mit groben
Granula unterschiedlicher Differenzierungs-
stufen

Zell- Num- mer	Archiv- Nummer	D i a g n o s e	Ort der Materialent- nahme	Zellart	Granula bei		Beobachtungs- dauer
					Beobachtungsbeginn	Beobachtungs- nicht vorhanden vorn.	
61	135/2266	normal	Knochenmark	Retikulum- zelle	+		8 h
62	135/2100	Mybl.-Promyel.Leuk.	"	"	+		3 h 25'
63	135/2049	Mybl.-Promyel.Leuk.	"	"	+		102 h 24'
64	135/2190	chron.Myeloise	"	"	+		9 h 12'
65	265/1907	Peritoneal-Ca.	Ascites	grob gran.Zelle monocytaire grob	+		
66	265/1894	Peritoneal-Ca.	"	gran.Zelle grob granu- liertes Mesothel	+		5 h 10'
67	64/504	benig.Ovarial Tu.	"	"	+		
68	64/697	Metastasen	"	"	+		24 h
69	202/1660	W. Hodgkin	Pleura	"	+		69 h
70	3/1656	W. Hodgkin	"	"	+		4 h 30'
71	3/1654	W. Hodgkin	"	"	+		4 h 30'
72	78/1619	normal	Hautfenster	grob gran.Zelle	+		1 h

Zell-Num-mer	Z e l l e		K e r n		errechneter mittlerer Zelldurchmesser μm	errechnete mittl. Kern-Plasma-Relation	Durchmesser μm	Bewegungs-typ	Ge-schwin-dig-keit $\mu\text{m}/\text{min}$
	errechnete Fläche μm^2	Ende	errechnete Fläche μm^2	Ende					
31	330,2	304,6	293,6	96,6	101,7	97,5	19,3	11,2	0,58
32	unverändert	243,4	297,6	unverändert	74,1	77,6	17,6	8,4	0,48
33	298,5	296,7	297,6	74,1	77,6	75,0	19,5	9,8	0,50
34	281,2	220,8	215,0	55,9	78,3	67,1	16,6	9,2	0,56
35	175,5	310,5	218,0	35,9	44,9	40,3	16,7	7,2	0,43
36	161,5	178,9	179,5	49,5	53,3	53,3	14,8	8,3	0,56
37	240,4	264,5	250,8	25,8	30,1	26,5	17,8	5,8	0,33
38	350,1	312,6	331,4	78,3	98,3	88,3	20,5	10,6	0,33
39	158,2	346,1	229,0	37,8	77,4	51,3	17,1	8,1	0,52
40	502,5	468,8	485,7	112,5	116,3	114,4	24,8	12,1	0,22
41	380,4	353,4	366,9	115,9	81,8	98,8	21,6	11,2	0,23
42	69,1	86,8	78,0	27,9	22,2	25,3	9,9	5,6	0,57
43	unverändert	408,8	408,8	unverändert	unverändert	39,3	22,8	7,0	0,31
44	unverändert	128,7	128,7	unverändert	unverändert	22,6	12,8	5,4	0,42
45	unscharf								
46	unscharf								
47	294,6	354,8	324,7	80,4	62,4	71,4	20,3	9,5	0,47
48	257,0	325,3	291,2	58,7	55,2	56,9	19,3	8,5	0,44
49	unverändert	270,9	270,9	unverändert	unverändert	82,6	18,3	10,3	0,55
50	unverändert	155,3	155,3	unverändert	unverändert	67,3	14,1	9,3	0,66
51	284,4	317,4	300,9	100,1	110,1	105,3	19,6	11,6	0,43
52	207,0	467,1	334,8	53,1	142,8	102,8	20,7	11,4	0,59
53	271,5	246,3	258,9	unverändert	unverändert	50,2	18,2	8,0	0,55
54	unverändert	247,3	247,3	unverändert	unverändert	62,4	17,7	8,9	0,44
55	unverändert	172,0	172,0	unverändert	unverändert	31,8	14,8	6,4	0,50
56	unverändert	99,1	99,1	unverändert	unverändert	42,1	11,2	3,8	0,43
57	243,8	272,8	286,3	67,5	99,0	101,8	19,1	11,4	0,42
58	181,1	164,2	172,7	42,8	55,2	49,0	14,8	7,9	0,59
59	195,7	215,0	172,0	68,8	54,6	58,1	14,8	8,6	0,53
60	unscharf								0,58

Tabelle 2 b (Fortsetzung)
Messergebnisse der Phasenkontrastmikroskopischen
Verlaufsbeobachtungen an Zellen mit groben Granula
unterschiedlicher Differenzierungsstufen

Zell- Num- mer	Z e l l e		K e r n		errechne- ter mitt- lerer Zell- durchmes- ser μm	errechne- ter mitt- lerer Kern- durchmes- ser μm	errechnete mittlere Kern-Plasma- Relation	Durchm.	Geschwin- digkeit $\mu\text{m}/\text{min}$
	Anfang	Ende	Fläche μm^2	errechnete Fläche μm^2					
61	unverändert		802,5	unverändert					
62	"		260,4	"	199,5	32,0	0,25	0,50	III 2,1
63	"		505,3	"	57,4	18,2	0,22	0,47	II -
64	"		324,3	"	63,6	25,4	0,12	0,35	II -
65	"		622,0	"	69,0	20,3	0,21	0,46	III 2,6
66	"		247,0	"	121	27,3	0,19	0,44	I -
67	"		315,0	"	56,5	17,6	0,27	0,46	II -
68	"		296,1	"	52,5	20,0	0,17	0,41	I -
69	"		362,3	"	77,5	19,4	0,26	0,51	I -
70	"		520,8	"	78,7	21,5	0,21	0,47	I -
71	"		451,5	"	142,6	25,8	0,27	0,52	I -
72	"		419,2	"	129,0	24,0	0,29	0,53	I -
					50,0	23,1	0,11	0,34	I -

Für die Zellen-Nr. 48, 49, 60 konnte nur die Fortbewegungsgeschwindigkeit ausgewertet werden.

Tabelle 2 c

Errechnete Mittelwerte aus den Planimeterergebnissen
der Tabellen 2a, 2b für Zellen mit groben Granula
unterschiedlicher Differenzierungsstufen

Zell- Num- mer	Zellart	Z e l l e		K e r n		Kern- Plasma- Relation	
		Fläche	Durch- messer	Fläche	Durch- messer	Fläche	Durch- messer
31-32	Promyelocyt	$\bar{x}$: 268,5 μm^2	$\bar{x}$: 18,5 μm	$\bar{x}$: 76,7 μm^2	$\bar{x}$: 9,8 μm	$\bar{x}$: 0,28	$\bar{x}$: 0,53
33-35	Myelocyt	$\bar{x}$: 243,5 "	$\bar{x}$: 17,6 "	$\bar{x}$: 61,1 "	$\bar{x}$: 8,7 "	$\bar{x}$: 0,25	$\bar{x}$: 0,50
		$\bar{s}$: 46,8 "	$\bar{s}$: 1,6 "	$\bar{s}$: 18,5 "	$\bar{s}$: 1,4 "	$\bar{s}$: 0,07	$\bar{s}$: 0,07
36	Metamyelocyt	179,5 μm^2	14,8 μm	53,3 μm^2	8,3 μm	0,31	0,56
37	stärkerniger Granulocyt	250,8 μm^2	17,8 μm	26,5 μm^2	5,8 "	0,11	0,33
38-49	grob granulierende Zellen	$\bar{x}$: 291,5 "	$\bar{x}$: 18,8 "	$\bar{x}$: 65,1 "	$\bar{x}$: 8,8 "	$\bar{x}$: 0,23	$\bar{x}$: 0,48
		$\bar{s}$: 122,9 "	$\bar{s}$: 4,5 "	$\bar{s}$: 31,2 "	$\bar{s}$: 2,4 "	$\bar{s}$: 0,07	$\bar{s}$: 0,07
50-52	Promonocyten	$\bar{x}$: 263,7 "	$\bar{x}$: 18,3 "	$\bar{x}$: 91,8 "	$\bar{x}$: 10,8 "	$\bar{x}$: 0,35	$\bar{x}$: 0,59
		$\bar{s}$: 95,4 "	$\bar{s}$: 3,5 "	$\bar{s}$: 28,5 "	$\bar{s}$: 1,3 "	$\bar{s}$: 0,07	$\bar{s}$: 0,06
53-60	monocytaire grob gran. Zellen	$\bar{x}$: 201,2 "	$\bar{x}$: 15,8 "	$\bar{x}$: 56,5 "	$\bar{x}$: 7,9 "	$\bar{x}$: 0,29	$\bar{x}$: 0,49
		$\bar{s}$: 65,4 "	$\bar{s}$: 2,8 "	$\bar{s}$: 22,4 "	$\bar{s}$: 2,3 "	$\bar{s}$: 0,09	$\bar{s}$: 0,09
61-64	grob. gran. Retikulumzellen	$\bar{x}$: 473,1 "	$\bar{x}$: 23,9 "	$\bar{x}$: 97,4 "	$\bar{x}$: 10,7 "	$\bar{x}$: 0,20	$\bar{x}$: 0,45
		$\bar{s}$: 242,8 "	$\bar{s}$: 6,1 "	$\bar{s}$: 68,2 "	$\bar{s}$: 3,5 "	$\bar{s}$: 0,06	$\bar{s}$: 0,07
65-71	grob gran. Gewebezellen	$\bar{x}$: 402,1 "	$\bar{x}$: 22,3 "	$\bar{x}$: 93,9 "	$\bar{x}$: 10,7 "	$\bar{x}$: 0,23	$\bar{x}$: 0,48
		$\bar{s}$: 134,9 "	$\bar{s}$: 3,7 "	$\bar{s}$: 32,3 "	$\bar{s}$: 2,2 "	$\bar{s}$: 0,04	$\bar{s}$: 0,04
72	grob. gran. Zelle (Hautfenster)	419,2 μm^2	23,1 μm	50,0 μm^2	7,9 μm	0,11	0,34

b. granulopoetische Vorstufen

Eine grobe Granulation konnte auch in Zellen granulopoetischer Vorstufen phasenoptisch gesehen werden. Die Meßergebnisse aus den planimetrierten Zeichnungen der 16 mm Filme sind in den Tabellen 2a, 2b und 2c, Seite 27-31 zusammengestellt worden.

Promyelocyten (Zell-nr. 31-32) mit einer Zellfläche von $\bar{x}$: $268,5 \mu\text{m}^2$ (Kernfläche $\bar{x}$: $76,7 \mu\text{m}^2$) waren zweimal vertreten. Entsprechend dem kleinen Kerndurchmesser von $\bar{x}$: $9,8 \mu\text{m}$ zu dem im Verhältnis großen Zelldurchmesser von $\bar{x}$: $18,5 \mu\text{m}$ ist auch die KPR der Durchmesser mit $\bar{x}$: 0,53 gegenüber den Stammzellen deutlich kleiner. (Vergleiche Tabelle 1e, S. 23).

Das Cytoplasma enthält außer einer feinen, dichten Granulation, so daß ein Cytocentrum deutlich ausgeprägt ist, auch eine grobe Granulation ($0,5-1,5 \mu\text{m}$). In der streifig-fleckigen Chromatinstruktur des exzentrisch liegenden, nierenförmigen Kerns sind Nukleoli nicht immer deutlich erkennbar. Die grob granulierten Promyelocyten bewegen sich nur auf der Stelle und verhalten sich kinetisch wie die Granuloblasten anderer Entwicklungsstufen nämlich ohne meßbare Fortbewegung (13).

Myelocyten (Zell-Nr. 33-35) mit 0,5-2,0 μm großen groben Granula, die mit einer mittleren Zellfläche von $\bar{x}$: 243,5 μm^2 ($\bar{s}$: 46,8 μm^2) und einer Kernfläche von $\bar{x}$: 61,1 μm^2 ($\bar{s}$: 18,5 μm^2) etwas kleiner sind als die grob granulierten Promyelocyten, haben eine KPR der Durchmesser von $\bar{x}$: 0,50 ($\bar{s}$: 0,07).

Die Abbildung 6 zeigt einen Myelocyten, dessen Cytoplasma außer den zahlreichen, zumeist homogen phasenpositiven Granula, eine feine Granulation aus schwärzlichen und grauen Partikelchen enthält. Der etwas eingebuchtete, nierenförmige Kern zeigt eine grob-fleckige Struktur, in welcher Kernkörperchen nicht sicher erkennbar sind.

Metamyelocyt (Zell-Nr. 36, Abbildung 7).

Dieser mit einer Zellfläche von 179,5 μm^2 (Kernfläche 53,3 μm^2) wiederum kleinere grob granulierte Granuloblast hat mit 0,56 etwa die gleiche KPR der Durchmesser wie die übrigen grob granulierten Zellen der granulopoetischen Vorstufen. Im Cytoplasma ist die grobe und die übliche feine Granulation gut zu unterscheiden. Der anfangs hörnchenförmig gebogene Kern reift während der Beobachtung zum Stabkernigen.

grob granulierte stabkernige Zelle (Zell-Nr. 37, Abb. 8).

Diese mit 250,8 μm^2 überraschend große Zelle (Kernfläche 26,5 μm^2) zeigt ebenfalls eine grobe Granulation, die

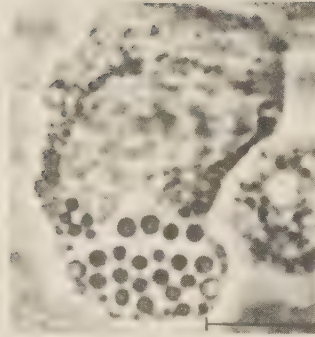


Abb. 6 (Zell-Nr. 33): Myelocyt mit groben Granula

Die Zellbegrenzung ist glatt. Cytoplasma-
ausläufer sind nicht vorhanden. In dem etwa
in Zellmitte liegenden Kern ist in dem grob-
scholligen Chromatingerüst ein Nukleolus
nicht erkennbar. Das Cytoplasma enthält
außer einer feinkörnigen Granulation eben-
falls 0,5 - 2,0 μm große überwiegend
phasenpositive Granula.

Aus Knochenmarkkultur bei Anämie. 16 mm Negativfilm
Nr. 75/738 Ölimmersion 100-fach

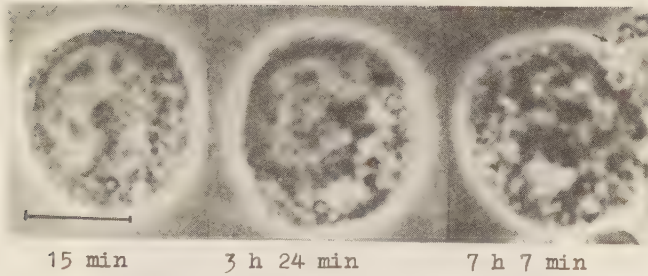


Abb. 7 (Zell-Nr. 36): Metamyelocyt mit groben Granula

Der zu Beobachtungsbeginn scharf begrenzte hörnchenförmige Kern ist während der ca. 7stündigen Beobachtungszeit zum Stabkern ausgereift. Im Cytoplasma sind außer diffus verteilten kleineren Partikeln einige bis zu $1,5 \mu\text{m}$ messende, central aufgehellte Granula erkennbar. ($\rightarrow$) Extracellulär liegende grobe Granula.

Aus Kultur von normalem Knochenmark. 16 mm Negativfilm
Nr. 89/1909 Ölimmersion 100-fach.

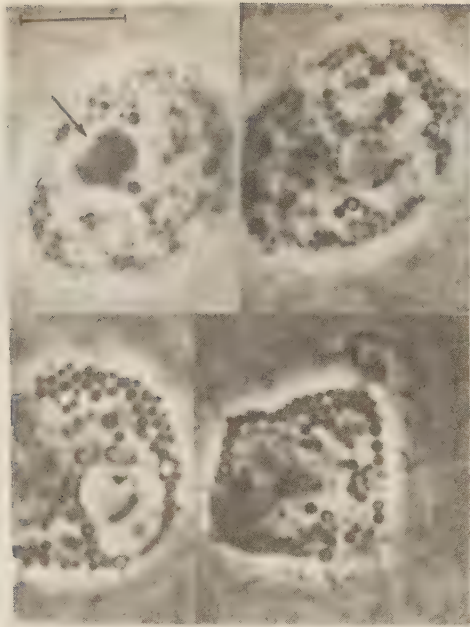


Abb. 8 (Zell-Nr. 37): Erythrocytenphagocytose von einer grob granulierten stabkernigen Zelle.

Die anfangs spärlich grob granulierte Zelle haemolysiert den phagocytierten Erythrocyten und bildet eine große Verdauungsvakuole.

Nach ca. 4 Stunden ist der Phagosom vollständig lysiert und phasenoptisch nicht mehr nachweisbar. Während der ganzen Zeit ist eine breite undulierende Membran zu beobachten, von welcher zahlreiche Pinocytose-Bläschen in das Cytoplasma wandern. Die groben Granula haben sich deutlich vermehrt und sind am Beobachtungsende bis zu $1,0\ \mu\text{m}$ angewachsen und fast alle homogen phasenpositiv.

Aus Knochenmarkkultur bei Eisenmangelanämie. 16 mm Negativfilm Nr. 257/1747 Ölimmersion 100 fach. Nach BOLL/AUST(11)

sich nach Erythrocytenphagocytose und vollständiger Haemolyse des Phagosoms vermehrt. Die homogen phasenpositiven Granula sind $0,5 - 1,0 \mu\text{m}$ groß. Die Zelle ist von einer breiten undulierenden Membran umgeben. Während der gesamten Beobachtungszeit findet ein lebhafter Stoffaustausch, kenntlich an der Pinocytoseaktivität der Zelle, statt.

Wie für die Kinetik der Promyelocyten gilt auch für die der übrigen Granuloblasten mit groben Granula, daß keine meßbare Fortbewegung (Lokomotion) erfolgt. Sie bewegen sich nur auf der Stelle und gehören dem Bewegungstyp I oder II an. (Vergleiche Seite 53 und Tabelle 3, Seite 52).

c. grob granulierte Zellen (Nr. 38-49 der Tabelle 2)

Die in dieser Gruppe zusammengefaßten 12 Zellen (davon zwei aus Blutkulturen Zell-Nr. 48-49) sind, wenn sie sich im Ruhestadium befinden, runde oder ovale Zellen, die eine relativ glatte Cytoplasmabegrenzung haben. Nur gelegentlich erscheinen an der Zelloberfläche zarte, meist granulafreie phasenpositive Cytoplasmaausläufer, die sich rasch wieder retrahieren (Abbildung 9). Diese im Mittel $\bar{x}$: $291,5 \mu\text{m}^2$ großen Zellen sind von außerordentlich unterschiedlicher Individualgröße ($\bar{s}$: $122,9 \mu\text{m}^2$). Das Cytoplasma ist voll

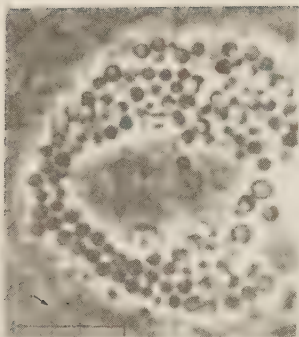


Abb. 9 (Zell-Nr. 47): grob granulierte Zelle.

Das Cytoplasma dieser runden glatt begrenzten aus dem Knochenmark stammenden Zelle ist mit groben Granula ($0,5-2,0 \mu\text{m}$) vollständig ausgefüllt. Nur der central liegende, pyknotisch aussehende phasenpositive Kern ist von den groben Granula ausgespart. Im Cytoplasma ist eine feine Granulation nicht mehr vorhanden. (—→) phasenpositiver granulafreier Cytoplasmaausläufer.

Aus Knochenmarkkultur bei M. Hodgkin. 16 mm Negativfilm Nr. 89/1576. Ölimmersion 100-fach.

mit 0,5 - 2,0 μm großen Granula, die überwiegend homogen phasenpositiv sind und nur selten eine zentrale Aufhellung zeigen. Der meist an der Zellperipherie gelegene runde strukturarme, oft pyknotische Zellkern mit einer mittleren Kernfläche von $\bar{x}$: 65,1 μm^2 ($\bar{s}$: 31,2 μm^2) ist gegenüber dem Cytoplasmaanteil klein. Entsprechend niedrig ist die errechnete KPR der Durchmesser $\bar{x}$: 0,48 ($\bar{s}$: 0,07).

Diese Zellen sind, verglichen mit den grob granulierten Zellen der granulopoetischen Vorstufen, wesentlich mobiler, da 6 Zellen (50 %) Lokomotion (Bewegungstyp III) ausführen. (Vergleiche Seite 55 und Tabelle 3, Seite 52).

d. grob granulierte Promonocyten und monocytäre Zellen

Anhand bekannter phasenkontrastmikroskopischer Kriterien für Zellen des Monocyten-Systems (6, 13, 60) konnten die im folgendenⁿ zusammengefaßten 11 grob granulierten Zellen als diesem System zugehörig identifiziert werden.

Promonocyten (Zell-Nr. 50-52)

Die beobachteten grob granulierten Promonocyten, für die die planimetrierte Zellfläche $\bar{x}$: $263,7 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}$: $95,4 \mu\text{m}^2$) und die Kernfläche $\bar{x}$: $91,8 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}$: $28,5 \mu\text{m}^2$) beträgt, ähneln mit einer KPR der Durchmesser von $\bar{x}$: $0,59$ ($\bar{s}$: $0,06$) sehr den grob granulierten Promyelocyten. Von letzteren unterscheiden sie sich jedoch durch spärliche, aber feine Cytoplasmagranulation, so daß sich das Cytocentrum kaum abzeichnet. (Abbildung 10). An der Zelloberfläche, die von einer feinen undulierenden Membran umgeben ist, sind sich rasch wieder kontrahierende phasenpositive Ausstülpungen erkennbar. In dem länglichen oder ovalen und meist exzentrisch liegenden Kern sind wegen der flauen Kernstruktur Nukleoli gut erkennbar.

Bei Phasenkontrast-vital-Beobachtungen ist eine Pino-cytose- und Phagocytosefähigkeit der Zellen zu beobachten. Die nach BOLL (13) für Promonocyten typische Fähigkeit zur Fortbewegung (Bewegungstyp III) konnte leider bei den hier beobachteten grob granulierten Promonocyten nicht gesichert werden, da diese sich nur auf der Stelle bewegten. (Vergleiche Tabelle 3, Seite 52).

grob granuliert monocytaire Zellen (Zell-Nr. 53-60)

Die mit einer errechneten mittleren Zellfläche von $\bar{x}$: $201,2 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}$: $65,4 \mu\text{m}^2$) großen Monocyten mit groben Granula haben ein zartes Cytoplasma, welches häufig und rasch seine Morphe verändert, so daß die Zellen fibroblastoid

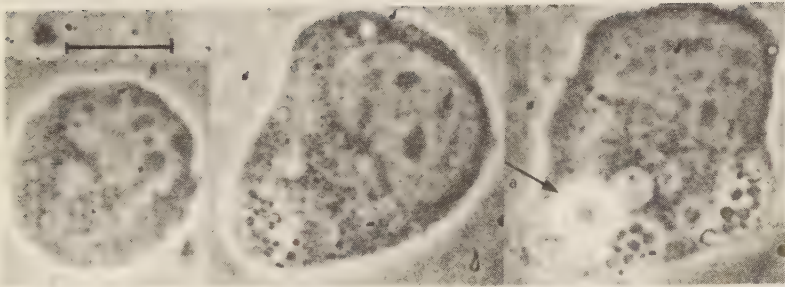


Abb. 10 (Zell-Nr. 52): Promonocyt mit groben Granula.

Die Zelloberfläche ist von einer feinen undulierenden Membran umgeben. Im Cytoplasma eine sehr feine Granulation, so daß ein Cytocentrum nicht deutlich erkennbar ist. Im 2. Teilbild einige ca. 0,5 μ m große Granula (links unten), die sich im 3. Teilbild deutlich vermehrt haben und teilweise auf 1,5 μ m angewachsen sind.

Der exzentrisch liegende, etwas eingebuchtete Kern hat eine flaue Innenstruktur, wodurch die Nukleoli gut zu erkennen sind.

Während der ca. 9-stündigen Beobachtungszeit wächst der Kern von Kernklasse $K \frac{1}{2}$ auf K 2. (a) Fremdkörper-einschluß.

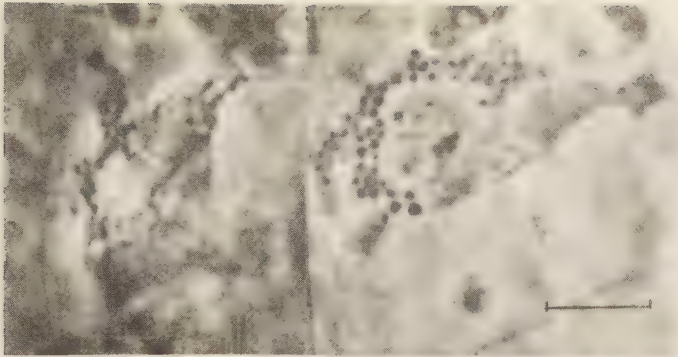
Aus Knochenmarkkultur bei neph. Anämie. 16 mm Negativfilm Nr. 256/2588. Ölimmersion 100-fach.

langgestreckt (Abbildung 12), aber auch mehr abgerundete (Abbildung 11) Form annehmen können. Die Zellen haben eine ausgeprägte Tendenz zur Ausbreitung, wobei eine breite undulierende Membran als hauchdünner Schleier am vorderen Zellpol, oder um die ganze Circumferenz gehend, entsteht. Am hinteren Zellpol können sich Uropoden bilden. (Abbildung 18)

Bei 6 von den beobachteten monocytären Zellen ist das Cytoplasma von Beobachtungsbeginn an vollständig mit 0,5-1,5 μm großen Granula aller optischen Schattierungen gefüllt, wodurch eine feine Granulation kaum noch erkennbar ist. Die übrigen 2 Zellen entwickeln die groben Granula während des Beobachtungsverlaufs.

Der strukturarme monocytäre Kern kann gelappt, rund oder oval geformt sein. Die errechnete Kernfläche beträgt $\bar{x}$: 56,5 μm^2 ($\bar{s}$: 22,4 μm^2). Die Berechnung der mittleren KPR der Durchmesser ergibt $\bar{x}$: 0,49 ($\bar{s}$: 0,09).

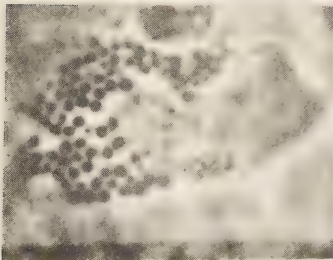
Ähnlich den grob granulierten Zellen (siehe Abschnitt c, Seite 37) zeichnen sich auch die grob granulierten monocytären Zellen durch lebhafte Fortbewegung aus. Der Anteil der zur Lokomotion befähigten (Bewegungstyp III) Zellen beträgt 50%. (Vergleiche Seite 55 und Tabelle 3, Seite 52)



0 h

9 h 53 min

Abb. 11 (Zell-Nr. 57): monocytäre Zelle mit groben Granula. In dem zarten Cytoplasma ist der strukturarme Kern nicht sicher abgrenzbar. Er nimmt an der ständig wechselnden Verformung der Zelle ebenfalls teil. Die Zelloberfläche ist von einer kaum sichtbaren undulierenden Membran umgeben, deren Pinocytoseaktivität auf dem Foto nicht erkennbar ist.



16 h 16 min

In der ca. 20-stündigen Beobachtung nehmen deutlich erkennbar zahlreiche Granula bis ca. $1,5 \mu\text{m}$ zu, die im 3. Teilbild alle homogen phasenpositiv sind. Eine feine Cytoplasmagranulation ist nicht vorhanden.

Aus Knochenmarkkultur bei Anämie. 16 mm Negativfilm
Nr. 97/1556 Ölimmersion 70-fach.

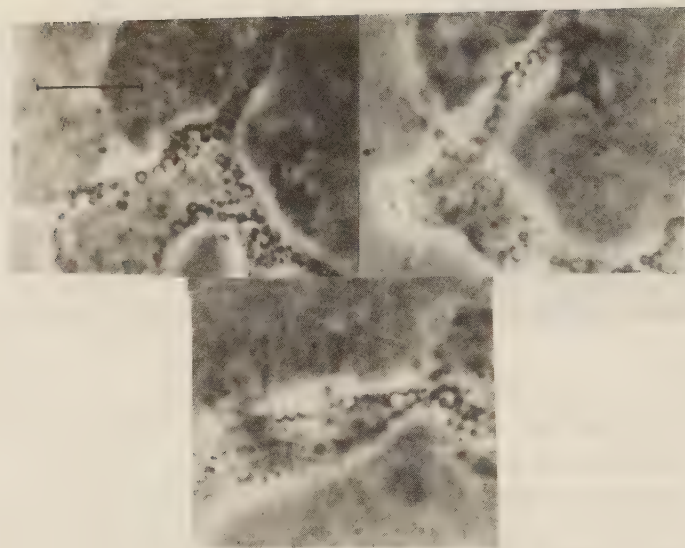


Abb. 12 (Zell-Nr. 53): monocytäre Zelle mit groben Granula

An dieser Zelle zeigt sich besonders deutlich die außerordentliche Formvariabilität. Im 1. Teilbild ist die Zellform etwa kugelig mit mehreren breiten phasenpositiven Cytoplasmaausläufern, dagegen ist die Zelle im 3. Teilbild fibroblastoid langgestreckt. Der gelappte, wenig strukturierte Kern wechselt ebenfalls ständig seine Form. In dem zarten fast phasennegativen Cytoplasma projizieren sich bis zu $1,0\ \mu\text{m}$ große Granula, die zumeist eine zentrale Aufhellung zeigen.

Aus Knochenmark bei akuter Monobl. Leukämie. 16 mm Negativfilm Nr. 209/2060 Ölimmersion 100-fach.

e. phagocytierende grob granulierte Retikulumzellen

(Zell-Nr. 61-64) wurden in den beobachteten Knochenmarkkulturen ebenfalls gesehen. Das lockere Cytoplasma enthält neben verschiedenen polymorphen Phagosomen eine dichte Granulation von bis zu $2,0 \mu\text{m}$ großen Granula unterschiedlicher optischer Dichte (Abbildung 13). Letztere sind so zahlreich vorhanden, daß der kleine rundliche Kern häufig verdeckt ist. Die Berechnungen der Planimeterergebnisse ergeben für die Zellfläche im Mittel $\bar{x}$: $473,1 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}$: $242,8 \mu\text{m}^2$) bei einer Kernfläche von $\bar{x}$: $97,4 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}$: $68,2 \mu\text{m}^2$).

Wie aus Tabelle 3, Seite 52 zu ersehen ist, gehörten 2 der grob granulierten Retikulumzellen dem Bewegungstyp III an.

2. Blut

Grob granulierte Zellen, wie sie unter Abschnitt 1 (Seite 24) für das Knochenmark beschrieben wurden, konnten auch in einigen Blutkulturen beobachtet werden.

a. Stammzellen (Zell-Nr. 28-30)

Für die grob granulierten Stammzellen sind die Ergebnisse der Planimeterberechnungen in den Tabellen 1a, 1b, 1c, 1d und 1e aufgetragen. Hinsichtlich ihrer morphologischen und

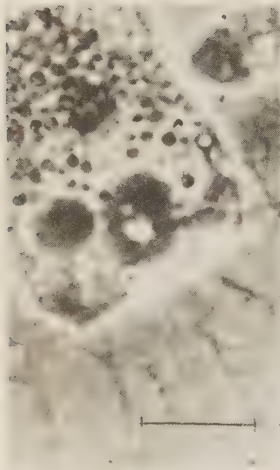


Abb. 13 (Zell-Nr. 61): phagocytierende Retikulumzelle mit groben Granula.

Das Cytoplasma enthält außer zahlreichen groben Granula unterschiedlicher phasenoptischer Schattierungen einige größere Phagosome. Der runde kleine Kern ist infolge der dichten Granulation nicht erkennbar.

Am unteren Zellpol fransenartige phasenpositive Cytoplasmaausläufer ohne Granula.

Aus normale.^m Knochenmark. 16 mm Negativfilm Nr. 135/2266
Ölimmersion 100-fach

funktionellen Eigenschaften bieten sie keine Besonderheiten gegenüber den unter Abschnitt 1a (Seite 24) beschriebenen grob granulierten Stammzellen des Knochenmarks.

b. grob granuliert Zellen (Zell-Nr. 48,49)

Die Morphologie und das funktionelle Verhalten dieser Zellen ist ebenfalls identisch mit denen der grob granulierten Zellen des Knochenmarks wie unter Abschnitt 1c (Seite 37) beschrieben. Die Meßergebnisse der phasenkontrastmikroskopischen Verlaufsbeobachtungen sind in den Tabellen 2a,2b und 2c, Seite 27- 31 zu entnehmen.

3. Gewebe (Ascites, Pleura und Hautfenster)

a. grob granuliert Zellen und grob granuliert monocytaire Zellen (Zell-Nr. 65,66,72)

konnten auch in Ascites-Kulturen und in einem Hautfensterpräparat gesehen werden.(Planimetrische Meßergebnisse Tabellen 2a - 2c, S.27-31) Abbildung 14 und 15 zeigen jeweils eine grob granuliert Zelle aus diesen Kulturen. Die Zellen weisen gegenüber den grob granulierten Zellen aus dem Knochenmark (vergleiche Abbildung 9, 11) keine morphologischen oder funktionellen Unterschiede auf.

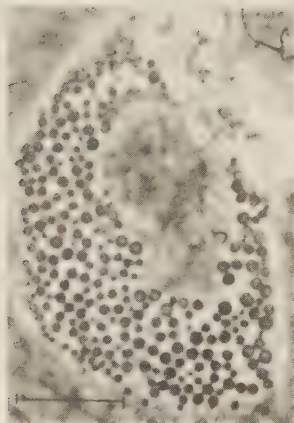


Abb. 14 (Zell-Nr. 65): grob granulierte Zelle
aus Ascites

Das Cytoplasma der glatt begrenzten rundlichen Zelle ist mit 0,5 - 1,5 μ m messenden, überwiegend homogen phasenpositiven Granula angefüllt.

Der ovale, wenig strukturierte Kern ist von den Granula ausgespart.

Aus Kultur bei Peritonealkarcinose. 16 mm Negativfilm
Nr. 265/1907 Ölimmersion 100-fach

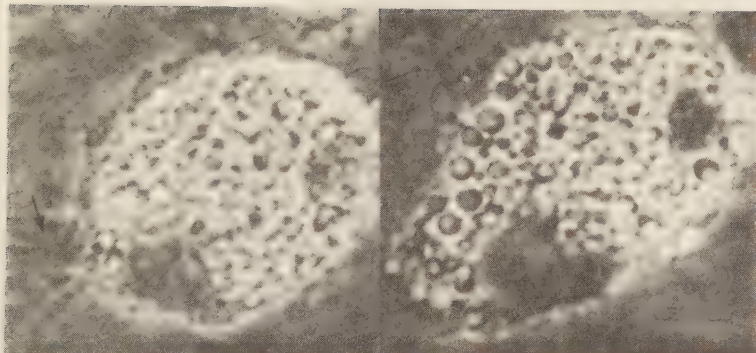


Abb. 15 (Zell-Nr. 72): grob granulierte Zelle aus Hautfenster.

Die runde, bzw. ovale Zelle ist von einer dünnen und schmaler schleierartigen undulierenden Membran umgeben. Am hinteren Zellpol (a) phasenpositive Uropode. Der kleine pyknotische Kern ist von schwärzlicher Phasenpositivität, so daß keine Einzelheiten der Innenstruktur erkennbar sind. Die 0,5 - 2,5 μ m großen Granula sind über das gesamte Cytoplasma verteilt. Sie erscheinen in verschiedenen optischen Qualitäten.

Aus einem Hautfensterpräparat eines haematologisch gesunden Patienten. 16 mm Negativfilm Nr. 78/1619 Ölimmersion 100-fach

b. grob granulierte Mesothelien (Zell-Nr. 67-71, Abb. 16)
wurden in Kulturen aus Ascites- und Pleurapunktaten
beobachtet. Die errechnete Zellfläche beträgt im Mittel
 $\bar{x}$: $402,1 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}$: $134,9 \mu\text{m}^2$) bei einer mittleren Kern-
fläche von $\bar{x}$: $93,9 \mu\text{m}^2$ ($\bar{s}$: $32,2 \mu\text{m}^2$). Hieraus ergibt sich
eine mittlere KPR der Durchmesser von $\bar{x}$: 0,48 ($\bar{s}$: 0,04).
Das unregelmäßig begrenzte zarte Cytoplasma ist mit
0,5 - 1,5 μm großen groben Granula gefüllt. Eine feine
Granulation ist nicht erkennbar. Die Zellen sind von
einer dünnen undulierenden Membran umgeben, die aller-
dings schmaler als die der grob granulierten monocytären
Zellen zu sein scheint. Ein lebhafter Stoffaustausch
(Pinocytose) konnte regelmäßig beobachtet werden, hingegen
ist eine Phagocytose-tätigkeit der Zellen seltener zu sehen.
Der runde oder gelappte Kern, der oftmals von den groben
Granula überdeckt ist, kommt in einer flauen fast voll-
ständigen Phasennegativität zur Darstellung, so daß
Einzelheiten der Innenstruktur kaum erkennbar sind.

Die grob granulierten Mesothelien sind sessile Zellen
ohne meßbare Fortbewegung. (Vergleiche Tabelle 3, Seite 52).



Abb. 16 (Zell-Nr. 67): Mesothel-Zelle mit groben Granula aus Ascites-Kultur.

Die Zellbegrenzung ist infolge einer undulierenden Membran, die sehr schmal ist, unscharf. Das gesamte Cytoplasma ist überwiegend von fast pansennegativen Granula ausgefüllt, die unterschiedlich groß sind. Der Kern ist durch die Granulafülle vollständig verdeckt.

Aus Ascites-Kultur bei benignem Ovarial-Tumor.

16 mm Negativfilm Nr. 64/504 Ölimmersion 70-fach.

Tabelle 3 Prozentualer Anteil der einzelnen Zellarten mit groben Granula in den verschiedenen Bewegungstypen. Zusammen- gestellt nach Tabelle 1a und 2b.

Z e l l - a r t	Zell- Num- mer	Zell- zahl	Bewegungstyp(nach Rind 1963)			mittlere Wanderungs- geschwindig- keit µm/min
			I sessil	II am Ort beweg- lich	III mit Lo- komo- tion	
Stamm- zellen	1-30	30	30,0%	43,3%	26,7%	4,8(0,14-8,8)
granulopo- etische Vorstufen	31-37	8	12,5%	87,5%	-	-
grob gran. Zellen	38-49	12	41,7%	8,3%	50,0%	4,8(1,6-15,1)
Promono- cyten	50-52	3	33,3%	66,6%	-	-
monocytaire grob gran. Zellen	53-60	8	-	50,0%	50,0%	5,1(2,0-13,8)
grob gran. Retikulum- zellen	61-64	4	-	50,0%	50,0%	2,4(2,1-2,6)
Gewebe (grob gran. Mesothel)	65-72	8	87,5%	12,5%	-	-

III. Kinetik und Funktion der Zellen mit groben Granula

a. Lokomotion

Die in vitro beobachteten Zellen mit groben Granula haben die Fähigkeit zur aktiven Fortbewegung. Je nach Bewegungsintensität kommt es dabei zu morphologischen Veränderungen des Zellkörpers, an welchen der Zellkern und die intrazelluläre Verteilung der Granula beteiligt sein können. Die Teilbild- und Laufbildanalyse der Bewegungsabläufe ermöglicht eine Objektivierung der kinetischen Vorgänge, so daß eine Einteilung in Anlehnung an die von RIND (61) für Granuloblasten und an die von BOLL und NITZEL (10) für leukämische Blasten getroffene Differenzierung in drei Bewegungstypen auch für die Zellen mit groben Granula erfolgen konnte. (Tabelle 3, S. 52).

Bewegungstyp I (sessile Zelle). Ohne Konturveränderung des Zellkörpers. Keine Bildung von Cytoplasmaausläufern.

Lediglich eine lebhafte Kinetik der weniger als $0,5\ \mu\text{m}$ messenden phasenpositiven Granula, die zwischen Zellperipherie und Cytocentrum kreisen. Nach Tabelle 3 gehören hierher 87,5 % der grob granulierten Mesothelien, ca. 30 % - 40 % der Stammzellen, der Promonocyten und der grob granulierten Zellen. Außerdem sind noch 12,5 % der granulopoetischen Vorstufen mit groben Granula diesem Bewegungstyp zuzurechnen.

Die Motilität der groben Granula ist bei allen Bewegungstypen unkoordiniert. Bei eventuellen Orts- und Lageveränderungen der Zellen scheinen sie passiv mitbewegt zu werden.

Bewegungstyp II (am Ort bewegliche Zellen)

Nicht selten gehen im Beobachtungsverlauf Zellen aus der sessilen Form in diesen Bewegungstyp über. Es bilden sich regellos und kurzfristig zarte, schwach phasenpositiv begrenzte, gelegentlich gestielte Cytoplasmaausläufer, in welchen grobe Granula fast nie zu sehen sind. Durch Ausbildung einer schleierartigen undulierenden Membran, die die ganze Cirkumferenz umgeben kann, wird eine Bewegung am Ort vollzogen, aber eine Fortbewegung (Lokomotion) findet nicht statt. Wie aus Tabelle 3, Seite 52 ersichtlich, sind 87,5 % der granulopoetischen Vorstufen diesem Bewegungstyp zugehörig. Der Anteil der Stammzellen, der Promonocyten, der monocytären- und der Retikulumzellen schwankt zwischen ca. 43 % und 66 %. Hingegen beträgt der Anteil der grob granulierten Zellen und der Mesothelien nur ca. 8 % bis 12,5 %.

Bewegungstyp III (Zellen mit Lokomotion)

Zumeist aus dem Ruhestadium heraus kommt es zu nicht zielgerichteter Fortbewegung durch örtlich häufigen Wechsel der Pseudopodienbildung und durch die am vorderen Zellpol vorwärtswedelnde undulierende Membran. Der Zellkern, im vorangehenden Teil der Zelle gelegen, nimmt an der Zellverformung teil (Abbildung 18). Am hinteren Zellpol sind häufig phasenpositive Bürzel (Uropoden) ausgebildet, die auch noch vorhanden sein können, wenn die Zellen wieder in der stärker abgerundeten Ruheform zum Stillstand gekommen sind. Hierher gehören nach Tabelle 3 jeweils 50 % der grob granulierten Zellen, der monocytären Zellen und der Retikulumzellen. Von den Stammzellen sind ca. 26 % mit Lokomotion behaftet.

Bei den grob granulierten Zellen (Zell-Nr. 38-49 der Tabellen 2a und 2b) konnte darüber hinaus noch ein anderer Bewegungsmodus beobachtet werden. Die Zellen nehmen eine vom vorderen Zellpol ausgehende birnenförmige Verformung an, wobei ein schmaler Cytoplasmasaum, der einige grobe Granula enthalten kann, den vorangehenden Teil bildet. Es folgt der ebenfalls verformte Zellkern. Im hinteren Cytoplasmaanteil befindet sich der größte Teil der groben Granula. Es hat den Anschein, als ob eine über den Zellleib laufende Kontraktionswelle die Zelle vorwärtstriebe. (Abbildung 17). Eine undulierende Membran oder Pseudopoden sind bei diesem Bewegungsablauf nicht zu erkennen.

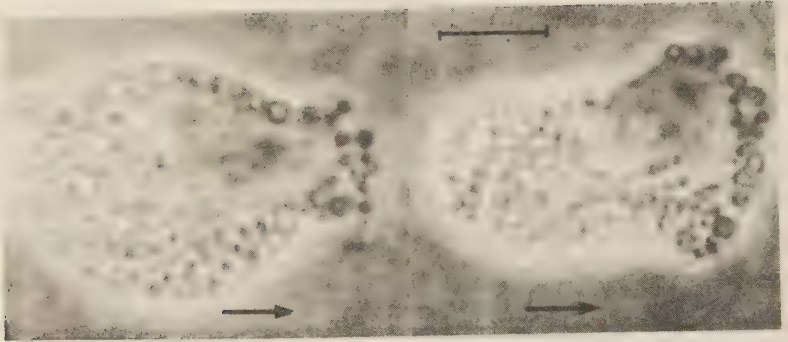


Abb. 17 (Zell-Nr. 40): reife grob granulierte Zelle vom Bewegungstyp III.

Im vorangehenden vorderen (—→ Bewegungsrichtung) Plasmaanteil einige grobe Granula. Unmittelbar folgend der an der Bewegung teilnehmende Zellkern. Im 1. Teilbild birnenförmige Verformung des Zellkörpers. Im 2. Teilbild Nachziehen des hinteren Zellpols. Fortbewegung wahrscheinlich durch eine über die Zelle laufende Kontraktionswelle. Keine undulierende Membran oder Uropoden. Bewegungsgeschwindigkeit 4,7 $\mu\text{m}/\text{min}$.

Aus Kultur bei entzündlichem Knochenmark. 16 mm Negativfilm Nr. 89/504.Ölimmersion 100-fach.

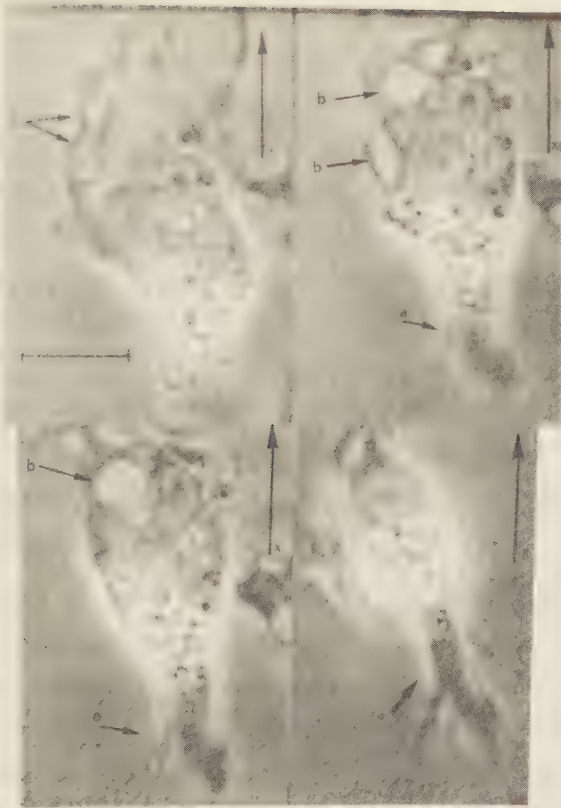


Abb. 18 (Zell-nr. 60): Monocyt mit grober Granulation vom Bewegungstyp III.

1. Teilbild: am vorderen Zellpol weit ausgebreitete schleierartige dünne undulierende Membran mit Pinocytose-Vakuolen (b). Im vorderen Drittel der Zelle der strukturarme gelappte Kern. Im hinteren Drittel viele central aufgehellte gr. Granula (x) Bewegungsrichtung.
2. Teilbild: beginnende Retraktion der undulierenden Membran. Die Pinocytose-Vakuolen wandern ins Cytoplasma. (a) Uropode.
3. Teilbild: die Pinocytose-Vakuolen sind zusammengefloßen.
4. Teilbild: Die P.-Vakuole hat sich ins Plasma entleert. Die Zelle hat sich bis auf den phasenpositiven Bürzel abgerundet. Bewegungsgeschwindigkeit 13,8 $\mu\text{m}/\text{min}$.

Aus Knochenmarkkultur bei M. Hodgkin. 16 mm Negativfilm Nr. 256/2589. Ölimmersion 100-fach.

Die mittlere Wanderungsgeschwindigkeit der etwa zu einem Viertel (26,7 %) zur Lokomotion befähigten Stammzellen mit groben Granula beträgt 4,8 (0,14-8,8) $\mu\text{m}/\text{min}$. Wie aus Tabelle 3, Seite 52 ersichtlich, ist der Anteil anderer Zellen mit groben Granula an dem Bewegungstyp III mit 50 % fast doppelt so hoch wie der der Stammzellen. Die mittlere Wanderungsgeschwindigkeit von ca. 5,0(1,6-15,1) $\mu\text{m}/\text{min}$ für die grob granulierten Zellen und die grob granulierten monocytären Zellen ist allerdings fast ebenso schnell wie die der Stammzellen. Lediglich die grob granulierten Retikulinzellen bewegen sich mit ca. 2,4 (2,1-2,6) $\mu\text{m}/\text{min}$ nur etwa halb so schnell wie die anderen Zellen.

b. Endocytose, Exocytose

Zu den Funktionsäußerungen der Zellen mit groben Granula gehört die Endocytose von Partikeln aus dem Kulturmedium und die Exocytose von Phagosomen und groben Granula.

Pinocytose

Besonders häufig ist das Entstehen von 1-5 μm (im Durchmesser) großen Tröpfchen in Teilen der flach ausgebreiteten undulierenden Membran zu verfolgen. Mehrere solcher Pinocytose-Vakuolen können durch Retraktion dieser Membran in das Cytoplasma befördert werden und zusammenfließen, um alsbald (spätestens nach sechs Minuten) plötzlich zu verschwinden. (Abbildung 18).

Phagocytose von Partikeln aus dem Kulturmedium wurden vor allem bei den monocytären Zellen mit groben Granula gesehen. In einigen Fällen kam es auch zur Ingestion von Fragmenten aus degenerierten Zellen.

Sowohl die Pinocytose als auch die Phagocytose der Zellen scheint einen Einfluß auf die Bildung der groben Granula zu haben. Besonders deutlich konnte dies im Falle einer Erythrocyten-Phagocytose demonstriert werden (Abbildung 8). Ein anfangs nur spärlich mit kleinen (ca. $0,5 \mu\text{m}$) schwach phasenpositiven Granula ausgestatteter stabkerniger Granulocyt, der von einer breit angelegten undulierenden Membran umgeben ist, bildete um einen phagocytiierten Erythrocyten eine Verdauungsvakuole. Nach vollständiger Haemolyse verschwand der Erythrocytenschatten allmählich. Nach ca. 4 Stunden war die Vakuole phasenoptisch nicht mehr nachweisbar, was sicher den Abschluß der Digestion bedeutete. Während der ca. 7stündigen Gesamtbeobachtung nahm die grobe Granulation der Zelle deutlich zu. Am Ende der kinematischen Aufzeichnung sind die groben Granula bis zu $1,0 \mu\text{m}$ groß und überwiegend homogen phasenpositiv.

Weitergabe einer Vakuole, die der oben beschriebenen Verdauungsvakuole phasenoptisch vergleichbar ist (Abbildung 19), von einer neutrophil granulierten Zelle an eine grob granulierten Zelle, wurde allerdings nur einmal beobachtet. Eine Lyse dieses Phagosoms erfolgte jedoch nicht.

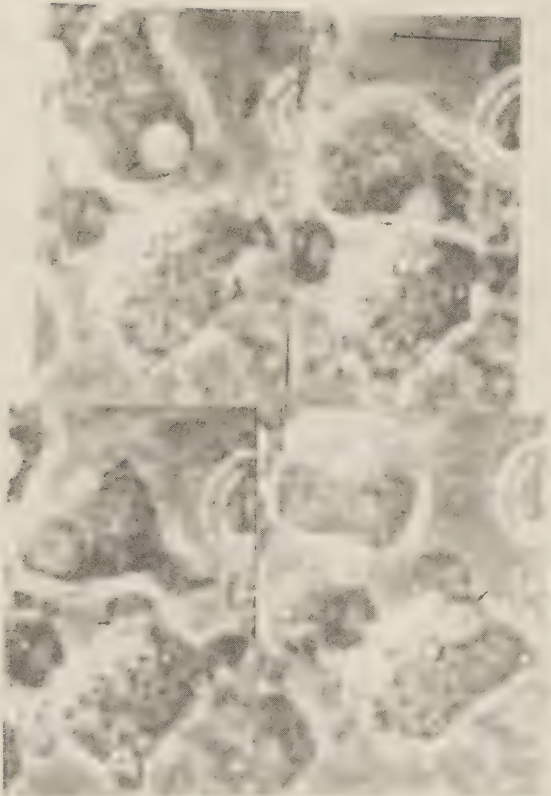


Abb. 19: Weitergabe einer Vakuole von einer neutrophil
granulierten Zelle an eine Zelle mit groben
Granula.

Aus Blutkultur bei chron. Myelose.

16 mm Negativfilm Nr. 96/1465. Ölimmersion 100-fach.

Exocytose grober Granula

Einzelne grobe Granula wurden gelegentlich auch außerhalb, zumeist in unmittelbarer Nähe grob granulierter Zellen gesehen (Abbildung 7). Anhand von zwei Beobachtungen kann gezeigt werden, wie die Granula in das umgebende Medium gelangen können.

Abbildung 20 (Zell-Nr. 38 der Tabelle 2a und 2b, Seite 27 bis 30) zeigt im 1. Teilbild eine grob granulierte Zelle, deren Cytoplasma vollständig mit groben Granula unterschiedlicher phasenkontrastmikroskopischer Schattierungen überladen ist. Im 2. Teilbild ist eine Ruptur der Zelle unverkennbar und die Granula beginnen sich in die Umgebung zu verteilen.

Andererseits scheint aber auch eine Granulaabgabe im Sinne einer merokrinen Sekretion möglich zu sein, wie dies in Abbildung 21 (Zell-Nr. 33 der Tabellen 2a und 2b) bei einem grob granulierten Myelocyten zu sehen ist. Ein kleiner Cytoplasmaanteil mit mehreren groben Granula löst sich vom Zellkörper und entfernt sich in toto von der Zelle.

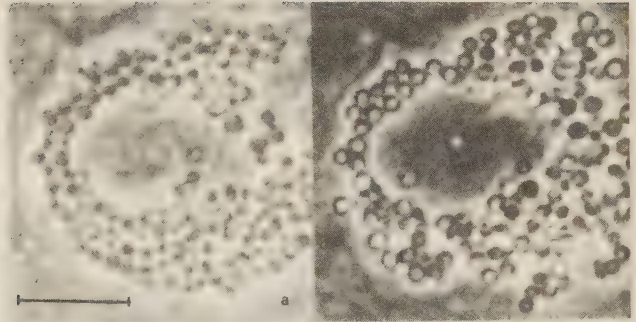


Abb. 20 (Zell-Nr. 38): reife grob granulierte Zelle, deren Cytoplasma vollständig mit $0,5 - 1,5 \mu\text{m}$ großen, zum Teil zentral aufgehellten, Granula vollständig überfüllt ist.

Im 2. Teilbild (2 Minuten später) beginnende Ruptur der Zelle. Die Granula verteilen sich in das umgebende Medium.

Aus Kultur bei normalem Knochenmark. 16 mm Negativfilm
Nr. 89/1747. Ölimmersion 100-fach.

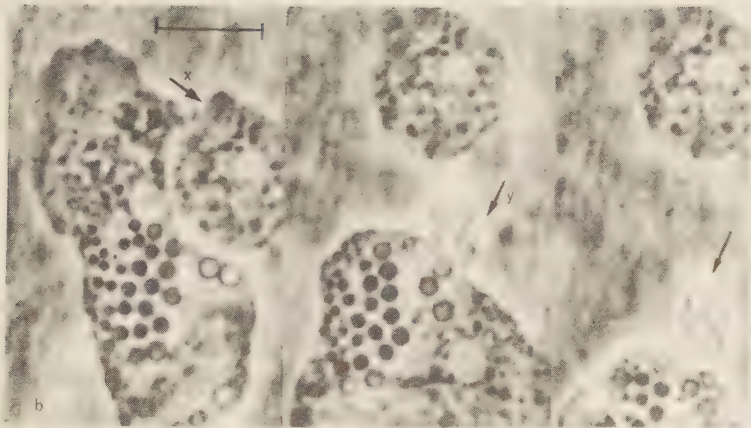


Abb. 21 (Zell-Nr. 33): merokrine Sekretion grober Granula

Ein grob granulierter Myelocyt, der im 1. Teilbild einen größeren Cytoplasmaanteil mit kleinen Partikeln abstößt (x).

Im 2. und 3. Teilbild wird eine weitere Cytoplasmainsel mit mehreren groben Granula in das umgebende Medium abgetrennt (y).

Aus Knochenmarkkultur bei Anämie. 16 mm Negativfilm
Nr. 75/738.

Ölimmersion 100-fach.

D. Diskussion

Der Besprechung von Strukturelementen an in vitro überlebenden Zellen, dargestellt im Phasenkontrastmikroskop, hat notwendigerweise eine kritische Würdigung dieses Verfahrens voranzugehen. Verfolgt man nämlich die Bildentstehung im Phasenkontrast, wird verständlich, daß diese von zwei Faktoren abhängig ist:

e r s t e n s von der Konstruktion des Phasenkontrastmikroskops, z w e i t e n s von der Beschaffenheit des haematologischen Präparates.

Faßt man die Ausführungen von RIND (60,61) zusammen, kommt die Bildentstehung im wesentlichen folgendermaßen zustande: das durch das natürlicherweise kontrastarme, ungefärbte Phasenobjekt hindurchgehende Licht wird in einen direkten (ungebeugten) und in einen gebeugten Teil zerlegt. Die Interferenz beider Anteile führt zu einer nicht sichtbaren Phasenverschiebung des Lichtes. Durch Verwendung eines Phasenplättchens im Bereich der Objektivebene kommt es zur Umwandlung der Phasenverschiebung in sichtbare Amplitudenunterschiede und damit zur Entstehung eines kontrastreichen Bildes. Eine objektgetreue Wiedergabe eines Phasenobjekts wird jedoch nur erreicht, wenn das Phasenplättchen ausschließlich das ungebeugte Licht beeinflußt. Werden hingegen Anteile des gebeugten Lichtes beeinflußt, kommt es

in der Bildebene zur Vortäuschung nicht vorhandener Strukturen. Dies ist der Fall, wie leicht einzusehen, wenn die Wahl des Phasenplättchens (erstens) für das durch das haematologische Objekt (zweitens) bedingte Interferenzbild ungeeignet ist. Da bei der Dokumentation des ausgewerteten Untersuchungsmaterials der Aufbau des Phasenkontrastverfahrens nicht verändert wurde, ist es wahrscheinlich, daß Unterschiede im optischen Verhalten einiger Strukturelemente des Kulturpräparates durch ihre veränderliche Beschaffenheit bedingt sind. Insbesondere trifft dies für die Granula zu, die, wie gezeigt werden konnte, von kompletter Phasennegativität, so daß optisch der Eindruck einer randlosen Vakuole entsteht, über kontrastreiche Zwischenstufen bis zur homogen schwärzlichen Phasenpositivität, zur Darstellung kommen. Phasenoptisch ausgedrückt: es gibt einen Punkt, wo der Brechungsindex der Struktur eine Umkehrung des anfänglich negativen (hellen) Phaseneffektes in einen phasenpositiven Effekt bewirkt, die *I n v e r s i o n*, (6,61). In bezug auf die groben Granula ist die Inversion, die nach RIND (61) auf kugelige Organellen mit hohem Brechungsindex beschränkt bleibt, kenntlich an der zentralen Aufhellung (Phasennegativität) mit dem dunklen (phasenpositiven) Randwall.

Durch eben diese optischen Eigenschaften, nämlich den hohen Brechungsindex (18,22) und die zentrale Aufhellung (6)

zeichnen sich auch Mastzellgranula aus. Werden also die groben Granula als Mastzellgranula aufgefaßt, so müssen folglich auch die oben beschriebenen variierenden optischen Eigenschaften der groben Granula (Abbildung 1) auf die Mastzellgranula zutreffen. Es stellt sich also die Frage nach der Substanz, die die optische Dichte in den Mastzellgranula beeinflusst, da auch diese zum Beispiel durch Zusatz eines Histaminliberators oder Protaminsulfats eine zentrale Aufhellung zeigen (2,67), oder nach Behandlung mit destilliertem Wasser ein Verschwinden der Brillanz eintritt und ein Übergang in mattgrau erfolgt (81).

Am wahrscheinlichsten kommt dafür das in den Mastzellgranula entstehende Heparin und Histamin (4,49,59,63,65,70) in Frage. Das Heparin, welches durch Sulfurierung der Mucopolysaccharide heranreift (14,18,63), verändert mit dem Grad der Reifung auch die optische Dichte, was elektronenmikroskopisch belegt ist (21). Dieser biochemische Reifungsprozeß in Mastzellgranula zeigt sich demnach phasenoptisch im Übergang von Phasennegativität über kontrastreiche Zwischenstadien bis hin zur kompletten Phasenpositivität.

Ein weiteres Differenzierungskriterium, welches die Lebendbeobachtung für die abgebildeten Strukturelemente bietet, ist ihre Größe. Auch wenn die auf Seite 8 bereits er-

wähnte Ungenauigkeit bei Größenmessungen, die sich bei Abbildungen im Phasenkontrastverfahren nicht vermeiden läßt, in Betracht gezogen wird, können die beobachteten 0,5-1,5 μm großen groben Granula im Hinblick auf Größenangaben von Granula in menschlichen Gewebsmastzellen (6,71), die durch elektronenmikroskopische Untersuchungen anderer Autoren ermittelt wurden, als Mastzellgranula angesehen werden. Jedenfalls ist eine sichere Abgrenzung gegenüber den nur bis zu 0,9 μm großen eosinophilen (6,32) und den noch kleineren 0,15-0,35 μm messenden neutrophilen (1) Granula möglich.

Der Umstand, daß bei den hier vorliegenden Lebendbeobachtungen einzelne grobe Granula allerdings bis zu 2,5 μm groß sind, läßt sich möglicherweise durch den unterschiedlichen Quellungszustand der Zellorganellen in den Kulturen erklären.

Die 0,5-2,0 μm großen G l a n z k ö r n e r , die in Zellen der Granulopoese und Monopoese in vitro nachgewiesen werden (5,9,29,61), müssen nach dem Ausgeführten eine andere Innenstruktur besitzen als die groben Granula, weil sie im Gegensatz zu diesen nur in einer phasenoptischen Qualität vorkommen, das heißt, stets mit zentraler Aufhellung und phasenpositiver Randbegrenzung. Außerdem bilden sich Glanzkörner zurück (5), was bei groben Granula

niemals beobachtet wurde. Nach BEISSEL (5) sind als ein wesentlicher Bestandteil der reversiblen Glanzkörner "maskierte Lipide" anzusehen, die mit Sudan-Schwarz-B anfärbbar sind. Mit dieser Färbung wurden von anderen Untersuchern auch in Gewebsmastzellen Lipide nachgewiesen (27,58,63,78), die auf eine von GUSEK (34) nach elektronenmikroskopischen Befunden an Mastzellgranula postulierte lipoproteinbedingte Lamellierung hindeuten dürften. Allerdings sind mit der isolierten blauen Fraktion des Sudan-Schwarz-B-Farbstoffgemisches von SCHOTT (zit. n. BEISSEL S. 38) auch saure Mucopolysaccharide angefärbt worden, die ebenfalls in Mastzellgranula vorkommen (63,65,,), so daß identische Färbeergebnisse noch kein Beweis sind für identische Strukturen. Vielmehr hängt die Lipidspezifität dieser Färbung von ihrer methodischen Anwendung ab. Auch die histochemisch nachweisbare Cytochromoxydase in Glanzkörnern (5) und in Mastzellgranula (48) weist lediglich auf eine Beziehung beider Zellorganellen zu den Mitochondrien hin.

Schließlich kann dem Einwand, daß es sich bei den Zellen mit groben Granula möglicherweise um "Quasi-Mastzellen" handle, entstanden durch Phagocytose praeformierter Granula von Makrophagen (6,17,23,24,41,55,57,68,80), entgegenet werden, daß die Granulaentstehung in 50 % der Stammzellen (Tabelle 1a, Seite 20) und in 18 % der Zellen mit

groben Granula anderer Differenzierungsstufen (Tabelle 2a, Seite 27) direkt beobachtet werden konnte (Abbildung 2), ohne daß sie von außen aufgenommen wurden. Bei den restlichen Zellen waren die Granula unmittelbar nach der Materialentnahme (d.h. gleich zu Beginn der Beobachtung) bereits in den Zellen nachweisbar. In dem vorliegenden Untersuchungsmaterial wurde dagegen die Phagocytose praeformierter Granula von einem Makrophagen nur einmal gesehen (Abbildung 3).

Auch gegen die Interpretation der sich durch Regelmäßigkeit und Formkonstanz auszeichnenden groben Granula als Degenerationsprodukte spricht die während der Granulabildungsphase fehlende Kern- und Zellschädigung, sowie die über viele Stunden erhaltene Lebens- und Funktionsfähigkeit der Zellen (38,56). Bei der Entstehung der groben Granula vollzieht sich hingegen bei Züchtung der in vitro überlebenden Knochenmarkzellen, insbesondere bei den Stammzellen, eine Zelltransformation. Diese ist cytomorphologisch kenntlich an der Wachstumstendenz von Zelle und Kern (Tabelle 1e, Seite 23), einer häufig feststellbaren Intensivierung der Zellkinetik, an dem durch einen Aufhellungsbezirk an der Konkavseite des Kerns sichtbaren Cytocentrum und schließlich an den sich in lebhafter Kinetik befindlichen Mitochondrien.

Ob die Mitochondrien Vorläufer einer Spezialgranulation sind, wie dies für basophile Granula mehrfach geäußert wurde (34,81), oder ob die Granulasynthese in der Golgi-Zone (3,63) ihren Beginn nimmt, kann phasenoptisch nicht entschieden werden. Auch zur Frage der Entstehung der Spezialgranulation aus azurophilen Granula, die nach BESSIS (6) im Phasenkontrast ohnehin an der Grenze des Sichtbaren sind, kann die Lebendbeobachtung nichts beitragen.

Die Phasenkontrastuntersuchung der Zellkulturen ermöglicht jedoch eine aussagekräftige Beobachtung der Funktionsäußerungen der Zellen mit groben Granula. So konnte zum Beispiel eine lebhafte Endocytoseaktivität registriert werden. Vor allem wird eine rege Stoffaufnahme (Pinocytose; s. Abbildung 18) während der Granulabildungsphase in den Zellen gesehen, so daß die Pinocytose als starker Reiz zur Bildung der groben Granula anzusehen ist, wie dies auch für die Bildung von sekundären Lysosomen bei Monocyten und Histiocyten von WITTEKIND (79) postuliert wird.

In zwei Fällen konnte die Entstehung und deutliche Zunahme grober Granula nach Kontakt mit Erythrocyten dokumentiert werden (Abb. 4,5). Im Falle der Erythrocytenadhärenz an der Zelloberfläche mag die antigene (sensibilisierende) Wirkung der blutgruppenaktiven Glykoproteine (11) maßgeblich sein. Die Erythrocytenphagocytose, bekannt bei

Monocyten und Granulocyten (6,20,33,36,66), und die darauffolgende Exocytose des Erythrocyten kann als der Versuch der Zelle gewertet werden, einen Erythrocyten-Antikörper-Komplex zu eliminieren, der aber lediglich zur Induktion der Bildung von Mastzellgranula führt. Dieser Befund erinnert an die 1927 von STOECKINGER (zit. bei MICHELS, S. 301) geäußerte Vermutung, daß Mastzellgranula Derivate phagocytiierter Erythrocyten darstellen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die in vielen Zellen beobachteten groben Granula sich aufgrund ihrer optischen Eigenschaften, ihres Entstehungsmodus und ihrer Morphe, soweit diese mit phasenoptischen Untersuchungsmethoden nachweisbar sind, als Mastzellgranula interpretieren lassen. Von Bedeutung ist nunmehr die Frage nach der Stammzelle des Zellsystems der grob gran. Zellen. Dazu wurden die planimetrischen Meßergebnisse der grob gran. Stammzellen (Tabelle 1d,1e, S. 22-23), die als solche anhand bekannter phasenkontrastmikroskopischer Kriterien (6,12,13,60,70) identifiziert wurden, zu den von BOLL (12,13) an Myeloblasten und Monoblasten durchgeführten Flächenmessungen in Bezug gesetzt. Dabei fällt auf, daß ca. 72 % der grob gran. Stammzellen den Kernklassen $K \frac{1}{2}$ und $K 1$ angehören mit der für Stammzellen typischen großen Kern-Plasma-Relation der Durchmesser von 0,66. In Verbindung mit ihrer Morphologie und dem kinetischen

Verhalten, wobei der geringe Anteil von ca 27% an wandernden Zellen (Tabelle 3, Seite 52) besonders hervorzuheben ist, kann an einer Entstehung dieser grob gran. Stammzellen aus dem monopoetischen System kein Zweifel bestehen. Darüberhinaus wurden noch ca 7% grob gran. Stammzellen der Kernklasse K 2 ermittelt, die nach BOLL (12) bevorzugt zu Histiocyten oder zu Gewebsmastzellen weiterwachsen.

Allerdings gehören auch ca 20% der grob gran. Stammzellen den Kernklassen $K \frac{1}{8}$ und $K \frac{1}{4}$ an, die typisch für die myeloisch determinierten Stammzellen (12) sind. Sie sind als Knochenmarkstammzellen basophiler Granulocyten anzusehen. In diese Entwicklungsreihe, deren Stadien denen der neutrophilen und eosinophilen Granulocyten entsprechen (60,61,70), sind auch die granulopoetischen Vorstufen mit groben Granula (Promyelocyten Nr. 31-32; Myelocyten Nr. 33-35, Abb. 6; Metamyelocyt Nr. 36, Abb. 7; stabkernige Zelle Nr. 37, Abb. 8), kenntlich an der phasenkontrastmikroskopischen Morphologie, ihrem Mangel an Fortbewegung und der kleineren Kern-Plasma-Relation der Durchmesser von 0,50-0,55, einzuordnen.

Entsprechend den mit 72% anteilmäßig häufig vertretenen grob granulierten Stammzellen aus dem monopoetischen System, fanden sich in der Analyse der Filmdokumentation auch grobe Granula in anderen Reifungsstufen der Monopoese. So konnten außer grob gran. Promonocyten (Abb. 10) auch monocytäre

Zellen, die sich besonders durch ständig wechselnde Morphe auszeichnen, beobachtet werden. Diese Zellen können sowohl eine langgestreckte fibroblastoide Gestalt (Abb. 12) als auch eine rundliche Zellkonfiguration mit unregelmäßig begrenztem Cytoplasma und kurzfristig entstehenden Cytoplasmaausläufern (Abb. 18) annehmen. Etwa die Hälfte dieser Zellgruppe zeigte Lokomotion (Bewegungstyp III). Das Cytoplasma ist mit überwiegend reifen, das heißt homogen schwarzen Granula gefüllt. Unter Einbeziehung der grob gran. Knochenmark-Stammzellen aus dem Monocyten-System und gestützt durch die licht- und elektronenmikroskopisch nachgewiesene monocytogene Gewebsmastzellentstehung bei Ratten (46,72) und die erwiesene Induzierbarkeit der Mastzellentstehung (18,31,54), können die vorliegenden Phasenkontrastbefunde zusammenfassend dahingehend interpretiert werden, daß auch das Entstehen von Gewebsmastzellen aus Zellen der Monopoese im menschlichen Knochenmark angenommen werden kann. Der Nachweis von Gewebsmastzellen im Knochenmark wurde bereits früher von anderen Untersuchern erbracht (6,35,42,43,61,62,75).

Wie auf Seite 47 ausgeführt, ist das Vorkommen der Zellen mit groben Granula nicht nur auf das Knochenmark beschränkt, sondern es finden sich auch im Blut grob gran. Stammzellen. Da der Übertritt ins Blut möglich ist, sobald die Zellen Lokomotion aufnehmen (12,13), ist dieser Befund nicht

überraschend, da, wie gezeigt wurde, 27% der Stammzellen sich mit einer mittleren Wanderungsgeschwindigkeit von 4,8 $\mu\text{m}/\text{min}$ fortbewegen können. Außer im Knochenmark und im Blut kommen Zellen mit groben Granula anderer Entwicklungsstufen auch im Gewebe vor. Sie können in Kulturen von Ascites- (Abb. 14,16) und Pleurapunktaten und in Hautfensterpräparaten (Abb. 15) nachgewiesen werden. Bei Fortbewegung wandern sie mit einer mittleren Geschwindigkeit von 5,1 $\mu\text{m}/\text{min}$., das heißt, sie bewegen sich etwas langsamer als Monocyten, die sich nach eigenen Messungen 6-12 $\mu\text{m}/\text{min}$ fortbewegen können. Die vorliegenden Befunde bestätigen die Beobachtung von BURTON (18) und GINSBERG (31), die bei in vitro entstandenen Mastzellen die Fähigkeit zur Fortbewegung dokumentierten. Die Lokomotion menschlicher Gewebsmastzellen wurde auch von SCHRECK (64) in Kulturen bei "Gewebsmastzell-Leukämie" gesehen.

Die Morphologie der Zellen mit groben Granula ist, wie dies auf den Seiten 24-50 ausführlich dargestellt werden konnte, uneinheitlich. Die mit 2,4 $\mu\text{m}/\text{min}$ nur sehr langsam wandernden phagocytierenden Zellen des Knochenmarks zeigen in ihrer Morphologie eine Verwandtschaft zu den Monocyten (13). Hingegen ist die Morphologie der grob granulierten Zellen (Nr. 38, 49,72 Abb. 9,15), die im Knochenmark-, in Blut- und in Gewebekulturen vorkommen, verschieden von den monocytären Zellen mit groben Granula (Abb. 11,18). Ihre Zellkonfiguration ist fast immer rundlich oder oval gestaltet mit glatter

Cytoplasmabegrenzung und mit nur gelegentlich an der Zelloberfläche kurzfristig auftretenden Cytoplasmaausläufern. Die undulierende Membran ist schmaler als die der monocytären Zellen. Gegenüber letzteren ist der Zell- und Kerndurchmesser etwas größer, die KPR der Durchmesser ist jedoch die gleiche wie die der monocytären Zellen mit groben Granula (Tabelle 2 c, Seite 31). Der Kern der grob granulierten Zellen ist stets rund bis oval und kaum verformbar. Anhand der phasenkontrastmikroskopischen Morphologie sind sie den von RIND (60) und BESSIS (6) beschriebenen Gewebsmastzellen zuzuordnen. Der Bewegungsablauf gleicht allerdings mehr dem Bewegungstyp der Granulocyten (Abb. 17), obwohl die Wanderungsgeschwindigkeit ebenso langsam ist wie bei den monocytären Zellen (Tabelle 3, Seite 52).

Unter der Einbeziehung der in vitro beobachteten Funktionsäußerungen der Zellen mit groben Granula läßt sich ihre Charakterisierung weiter präzisieren. So kann die bereits erwähnte Endocytoseaktivität der Zellen dahingehend ergänzt werden, daß, wie dies für Gewebsmastzellen (u.a. bei Mastocytose) schon früher beschrieben wurde (15,65,74), bevorzugt die Phagocytose von Erythrocyten in Makrophagen stattfindet. Die Phagocytose nicht opsonierter Erythrocyten (wie hier) ist von CLINE (20) bei menschlichen Monocyten beobachtet worden. Da bei den vorliegenden Untersuchungen auch die nachfolgende Digestion eines Erythro-

cyten verfolgt werden konnte (Abb. 8), kann das Vorhandensein oder die Induktion lytischer Enzyme angenommen werden. Die einmal beobachtete Aufnahme einer Vakuole (Abb. 19), die von einem Granulocyten kurz vorher abgegeben war, deutet jedenfalls auf die Fähigkeit der Mastzellen toxisches Material zu phagocytieren (51,62).

In enger Beziehung zu der Einwirkung exogener Faktoren auf Mastzellen steht auch die Reaktion ihrer Granula. Die unter experimentellen Bedingungen häufig erzeugte Freisetzung des Granulainhaltes, die zur Folge hat, daß die Granula phasenoptisch als Vakuole imponieren, oder die Ruptur der Zellen und die Verteilung der Granula in das umgebende Medium (19,21,24,37,50,51) wurde, wie zu erwarten, s p o n t a n nicht gesehen. Deshalb ist das Vorliegen von Mastzellgranula jedoch nicht auszuschließen, da in vitro eine Degranulation von bestimmten Kulturbedingungen (71) abhängig ist und unter physiologischen Bedingungen eine intrazelluläre Histaminfreisetzung auch ohne Zellruptur und Degranulation beobachtet wurde(53,55,65,67,72). In dem vorliegenden Beobachtungsgut wurden nur einmal Granula in Form einer merokrinen Sekretion (Abb. 21) abgesondert, wie auch von FERNEX (28) beschrieben. Im übrigen gelangten Granula in das umgebende Medium, wenn Zellen im Stadium der kompletten Granulaüberladung Absterbeerscheinungen zeigten und die Zellmembran sich auflöste(Abb. 20).

Funktionell gesehen handelt es sich bei den in vitro aus dem Monocyten-System transformierten Gewebsmastzellen um Zellen, die zur Phagocytose fähig sind, die Lokomotion aufnehmen und ins Blut übertreten können. Als solche sind sie in Übereinstimmung mit BESSIS (6) als Histiocyten zu bezeichnen. Damit ist der von UNDRITZ (75) beschriebene mögliche histiocytaire Funktionszustand der Gewebsmastzellen, die je nach ihrer Lokalisation entweder histiocyitär oder blutgängig (indirekt mobil) sein können, phasenkontrast-mikroskopisch bestätigt und eine Zuordnung in das von ROHR (62) vorgeschlagene Konzept der Knochenmarkformen des retikulo-histiocytären Systems gerechtfertigt.

E. Zusammenfassung

Aus menschlichem Knochenmark, Blut und Gewebe (Pleura, Ascites, Hautfenster) wurden sogenannte "platte Kulturen" hergestellt und bei 37°C mit einem Phasenkontrastmikroskop untersucht. Gleichzeitig erfolgte eine Dokumentation auf 16 mm Negativfilmen. Das Filmmaterial von 72 grob granulierten Zellen, die von 15 Minuten bis 105 Stunden beobachtet wurden, ist mittels Teilbild- und Laufbildanalyse ausgewertet worden.

Die 0,5-1,5 μm großen Granula sind zu Beobachtungsbeginn in 50 % der Stammzellen und in 81 % der Zellen anderer Differenzierungsstufen vorhanden. In den anderen Zellen kann die Entstehung und Zunahme der groben Granula in vitro beobachtet und kinematographisch aufgezeichnet werden. Die erste sichtbare Bildung von sehr kleinen Partikeln an der Konkavseite des Zellkerns wird als der Beginn einer Spezialgranulation diskutiert. Die groben Granula werden anhand ihrer phasenkontrastmikroskopischen Kriterien, die mit Angaben der Literatur verglichen werden, als basophile Granula interpretiert. Als phasenkontrastmikroskopisch faßbare Ursachen der In-vitro-Transformation von Knochenmark- und Blutzellen in Mastzellen und Blutbasophile werden außer immunologischen Vorgängen Einflüsse der Endocytoseaktivität der Zellen diskutiert.

Die Morphologie, das kinetische Verhalten und die große Kern-Plasma-Relation (der Durchmesser) der ca 15 μm großen grob granulierten Stammzellen sprechen für eine Abstammung aus der Monocyten-Stammzelle. Da auch die 10-25 μm großen monocytären Zellen anderer Differenzierungsstufen zu grob granulierten Zellen transformieren, ist die von anderen Untersuchern beobachtete Induzierbarkeit der Mastzelltransformation aus allen monocytären Zellen bestätigt worden. Außerdem wurde die Entstehung von Gewebsmastzellen aus Stammzellen, die sowohl im Knochenmark als auch im Blut vorkommen, beim Menschen phasenoptisch durch direkte Beobachtung nachgewiesen.

Die grob granulierten Stammzellen und die Zellen anderer Differenzierungsstufen mit groben Granula verhalten sich aufgrund ihrer Phagocytoseaktivität funktionell wie Makrophagen. Sie können Lokomotion aufnehmen und ins Blut emigrieren. Außer im Knochenmark und im Blut kommen sie auch im Gewebe vor.

Neben den monocytären Zellen mit groben Granula, die sich aus der Monocyten-Stammzelle entwickeln, kann die Entstehung von groben Granula auch in granulopoetischen Vorstufen (Promyelocyt, Myelocyt und Metamyelocyt) beobachtet werden. Sie werden der Entwicklungsreihe der basophilen Granulocytopoese zugeordnet. Als Stammzelle für diese Entwicklungsreihe wird die myeloisch determinierte Stammzelle angesehen, die auch grobe Granula bekommen kann und kleinere Kerne und Zellen als die Stammzelle der monocytären Zellen hat, aber die gleiche Kern-Plasma-Relation.

F. Literaturverzeichnis

1. ACKERMANN, G.A.: The human neurophil myelocyte
Zellf. 121:154 (1971)
2. ARCHER, G.T.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 103:478
(1963)
3. BAINTON, D.F. and FARQUHAR, M.G. Origin of granules in polymorphonuclear leukocytes
Cell.Biol. 28:282 (1966)
4. BARNETT, R.J. and HAGEN, P. Mastcell granules, containing
5-Hydroxytryptamine, Histamine and Heparin, morphologically
and biochemically distinct from mitochondria.
Biochem. J. 69:36 (1958)
5. BEISSEL, A.: Optische und histochemische
Untersuchungen an Glanzkörnern in kultivierten Knochenmark-
zellen und phytohaemagglutinin-
stimulierten Lymphocyten.
Diss. Berlin (1969)
6. BESSIS, M.: Living blood cells and their
ultra structure.
Springer Verlag
Berlin-Heidelberg-New York
(1973)
7. BOLL, I. und FUCHS, G.: Vereinfachtes Verfahren zur
kurzfristigen Kultivierung
von menschlichen Knochenmark
in vitro.
Blut 7:257 (1961)
8. BOLL, I.: Verhalten der Granuloblasten
während der Interkinese
Blut 11:9 (1965)
9. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physio-
logischen und pathologischen
Bedingungen
Springer-Verlag
Berlin-Heidelberg-New York
(1966)

10. BOLL, I. und Nitzel, H.: Die Kinetik leukämischer
Blasten (Myeloblasten, Mono-
blasten, Lymphoblasten) im
Vergleich mit Mononucleose-
zellen.
In: Leukämie
Springer-Verlag
Berlin-Heidelberg-New York
S. 199-203 (1972)
11. BOLL, I. und AUST, Ch.: Erythrocytenphagocytose mit
Zeitrafferfilm-Demonstration
In: Nowicki: Haemolyse-hämo-
lytische Erkrankungen
Bd. 11:41 (1973)
12. BOLL, I.: Phasenkontrast-Morphologie und
Kinetik der granulocyto- und
monopoetischen Stammzellen.
Blut 28:8 (1974)
13. BOLL, I.: Morphologische phasenkontrast-
kinematographische Studien zum
Verhalten von Knochenmark und
Blutzellen in vitro.
VIII: Das Monocyten-System
beim Menschen
Blut 28: 8-23 (1974)
14. BRAUNSTEINER, H.: The physiology and pathology
of leukocytes
Grune and Stratton
New York and London S. 62
(1962)
15. BRINKMANN, E.: Funktion und Krankheiten der
Mastzellen.
In: Selye, H.: The mast cells
S. 83
Washington Butterworths
(1965)
16. BRÜCHER, H.: Die Monocyten
In: Brücher, H. (Herausgeber):
Der Monocyt
S. 10-18
J.F. Lehmanns Verlag München
(1969)
17. BURTON, A.L.: The fate of normal mast cells
studied in tissue culture by
means of time lapse cinephoto-
micrography
The Anat. Rec. 136:407 (1960)

18. BURTON, A.L.: Studies on living normal mast cells
Ann. N.Y. Acad. Sci. 103:245 (1963)
19. CHAN, B.T.S.: Ultrastructural changes in Guinea-Pig bone marrow basophils during anaphylaxis
Immunology 23:215 (1972)
20. Cline, M.J. and LEHRER, R.I.: Phagocytosis by human monocytes
Blood 23: 429 (1968)
21. COMBS, J.W.: Maturation of rat mast cells
Cell. Biol. 31:563 (1966)
22. COMPTON, A.S.: A cytochemical and cytological study of the connective tissue mast cell
In: Selye, H.: The mast cells S. 66
Washington Butterworths (1965)
23. DESAGA, J.F. und TIETZ, G., LENNERT, K.: Zur Cytologie der Tuberkulinreaktion
Verh. Dtsch. Ges. Path. 54: 266 (1970)
24. DOUGHERTY, T.F. und SCHNEEBELI, G.L.: Microcinematographic demonstration of mast cell disintegration in living isolated loose connective tissue of mice.
Feder. Proceed. 17:37 (1958)
25. DOWNEY, H.: The development of the histogenous mast cells of adult Guinea-Pig and Cat, and the structure of histogenous mast cells of man.
In: Selye, H.: The mast cells S. 87
Washington Butterworths (1965)
26. EHRLICH, P.: Beiträge zur Kenntnis der granulierten Bindegewebszellen und der eosinophilen Leukozyten.
Zit. nach Rind, H.: Angewandte Phasenkontrasthämatologie S. 180
Habilitationsschrift Gießen (1963)

27. FEAGLER, J.R. and
McMANUS, J.F.A.:
Extraction resistance of Sudan
stained mast cells after
previous acid treatment
In: Selye, H.: The mast cells
S. 49
Washington Butterworths
(1965)
28. FERNEX, M.:
The mast-cell system
S. 22
Verlag S. Karger Basel
New York (1968)
29. FIEBELKORN, D.:
Die Sudanschwarz-B-Färbung
der Knochenmark-Kultur
Diss. Berlin (1973)
30. FURTH, R.v. and
COHN, Z.A.:
The origin and kinetics of
mononuclear phagocytes
J. Exp. Med. 128; 3:415
(1968)
31. GINSBURG, H.:
The in vitro differentiation
and culture of normal mast
cells from the mouse thymus
Ann. N.Y. Acad. Sci. 103:20
(1963)
32. GOETHE, M.:
Phasenkontrastmikroskopische
Beobachtungen an eosinophilen
Granuloblasten und Granulo-
cyten.
Diss. Berlin (in Vorber.)
33. GREENDYKE, M. and
BRIERTY, R.E. and
SWISHER, S.N.:
In vitro studies on Erythro-
phagocytosis
Blood 22:298 (1963)
34. GUSEK, W.:
Elektronenoptische Beobachtun-
gen an Mastzellen des Menschen
bei Mastzellretikuloze
Proc.Eur.Soc.Haemat. Wien
(1961)
35. HAMPEL, K.E.:
Quantitative Untersuchungen
über Gewebsbasophile im mensch-
lichen Knochenmark.
Verh. 8. Kongr.Europ.Ges.Haemat.
Wien 1961
Bd. 1: 54 (1962)
36. HUBER, H. und
FUDENBERG, H.H.:
Die Phagocytose von Erythro-
cyten-Antikörper-Komplexen
in vitro
Blut 19:357 (1969)

37. KELLER, R.: Tissue mast cells in immune reactions
S. 60
Habilitationsschrift Zürich
S. Karger Verlag Basel
New York (1966)
38. KIESER, R.: Studien zur Granulopoese in Zellen des Ehrlichschen Ascitescarcinoms der weißen Maus.
Arch. Geschw.Forsch.
10:144 (1956)
39. LEDER, L.-D.: Der Blutmonocyt
Springer Verlag
Berlin-Heidelberg-New York (1967)
40. LEIBTSEDER, F.: Karyometrie und Zytometrie.
Hdb. Allg. Hämat. I/1, S.178
Urban + Schwarzenberg München (1957)
41. MAXIMOW, A.: Über entzündliche Bindegewebsneubildung bei der weißen Ratte und die dabei auftretenden Veränderungen der Mastzellen.
Beitr. pathol. Anat. 35 (1904)
42. Mc DONALD, G.A. and DODDS, T.C. and CRUICKSHANK, B. Atlas der Haematologie
G. Thieme Verlag Stuttgart (1972)
43. MESSERSCHMIDT, J.: Fréquence des Mastzellen dans les frottis de moelle osseuse chez l'homme
Rev. d'Hémat. 9:189 (1954)
44. MEURET, G.: Die Monocytopoese beim Menschen
J.F. Lehmanns Verlag München (1974)
45. MICHELS, N.A.: The Mast Cells
Downey's Handbook of Hematology 1, 232 (1938)
Reprint in: Ann. N.Y. Acad. Sci. 103 (1963)

46. MÜLLER-HERMELINK, H.K. und Elektronenmikroskopische
THIEDE, A. Untersuchungen zur Herkunft
SONNTAG, H.G. von Gewebasmastzellen bei
MÜLLER-RUCHHOLTZ, W. Ratten
LEDER, L.-D.: Beitr. Path. 144:30)
(1971)
47. MUENCH, B.M.: Phasenkontrastmikroskopische
Beobachtung zum Phänomen der
Zeiose an menschlichen Knochen-
markzellen
Diss. Berlin (1971)
48. NOBACK, C.R. and Some histochemical aspects of
MONTAGUA, W.: the mast cell with special re-
ference to alkine phosphatase
and catochrom oxidase
In: Selye, H.: The mast cells
S. 50
Washington Butterworths
(1965)
49. OLIVER, J. and BLOOM, F. On the origin of Heparin
and MANGIERI, C.: J.Exp.Med. 86:107 (1947)
50. ORFANOS, C.: Mastzelle und Mastzell-
granulation
Klin. Wschr. 20:1177 (1966)
51. PADAWER, J.: Mast cell degranulation in
fixed preparations
Proc. of the Soc. for exper.
Biolog. and Medicine
120:318 (1965)
52. PAFF, H. and Vaculation in normal mast
MERGENTHALER, D.D. cells and in mast cells
treated with Protaminsulfat.
The Anat. Rec. 121:579
(1955)
53. PATTERSON, R. and Mast cells from human respi-
HEAD, L.R. ratory tissue and their in
SUSZKO, I.M. vivo reactivity
ZEISS, Jr. C.R. Science 175:1012 (1972)
54. PIUZNIK, D.H. and The induction of clones of
SACHS, L.: normal mast cells by a substance
from conditional medium
Exp. Cell Research 43:553
(1866)

55. POLICARD, A. et COLLET, A.:
Recherches par micro-cinématographie en contraste de phase sur le copartement des Mastocytes péritoneaux a l'état vivant
Bull.Micr. appl. 9:81 (1959)
56. POLICARD, A. et COLLET, A.
PREGERMAIN, S.:
Les cellules Basophiles et Eosinophiles du sang et des tissus chez le Rat
Rev. d'Hématologie 14:278 (1959)
57. REBUCK, J.W. and HODSON, J.M.
PRIEST, J.R.
BARTH, C.L.:
Basophilic granulocytes in inflammatory tissues of man
Ann. N.Y. Acad. Sci. 103:409 (1963)
58. RHEINGOLD, J.J. and WISLOCKI, G.B.:
Histochemical methodes applied to haematology
In: Selye, H.: The Mast cells S. 48,51
Washington Butterworths (1965)
59. RILEY, J.F.:
Functional signifiance of Histamine and Heparin in the tissue mast cell
Ann. N.Y. Acad. Sci. 103:151 (1963)
60. RIND, H.:
Atlas der Phasenkontrast-hämatologie
Akademie Verlag Berlin (1958)
61. RIND, H.:
Angewandte Phasenkontrast-hämatologie
Habilitationsschrift
Bd. I, II
Gießen (1963)
62. ROHR, K.:
Das menschliche Knochenmark
G. Thieme Verlag Stuttgart (1949)
63. SCHAUER, A.:
Die Mastzelle
G. Fischer Verlag Stuttgart (1964)
64. SCHRECK, R.:
Cytology of viable blood cells of tissue mast cell leukämia
Cancer 19:134 (1966)

65. SELYE, H.:
The mast cells
Washington Butterworths
(1965)
66. SENDA, N. and
TANURA, H.
KONDO, K.
KISHIGAMI, Y.:
The behavior of cell membrane
of Leukocytes in phagocytosis
Ann. Report of the Center for
Adult Disease 4:1 (1964)
67. SMITH, D.E. and
LEWIS, Y.S.
SYIHLE, G.:
Cinephotomicrography of
living mast cells under the
influence of pharmacological
agents
The Anat. Rec. 136:359
(1960)
68. SMITH, D.E.:
The tissue mast cell
Int. Rev. Cytol. 14:327
(1963)
69. SOMMER, H.L.:
Phasenkontrastkinematographie
von Knochenmark-Stammzellen
beim Menschen
Diss. Berlin (in Vorber.)
70. STOBBE, H.:
Hämatologischer Atlas
Akademie-Verlag Berlin
(1970)
71. STOECKENIUS, W.:
Zur Feinstruktur der Granula
menschlicher Gewebsmastzellen
Exp. Cell Research 11:656
(1956)
72. TAICHMANN, N.S.:
Ultrastructural alterations
in Guinea-Pig mast cells
during anaphylaxis
Int. Arch. Allergy 40: 934
(1971)
73. THIEDE, A.
MÜLLER-HERMELINK, H.K.
SONNTAG, H.G.
MÜLLER-RUCHHOLTZ, W.
LEDER, L.-D.
Preliminary report on the
origin of Rat mast cells
Klin. Wschr. 7:435 (1971)
74. ULMANN, J.E. and
MUTTER, R.D.
TANNENBAUM, M.
WARNER, R.R.P.
Clinical, cytological, and
biochemical studies in
systemic mast cell disease
In: Selye, H.: The mast cells
S. 84
Washington Butterworths
(1965)

75. UNDRITZ, E.: Haematologische Tafeln, Sandoz
Sandoz AG Nürnberg (1972)
76. UVNÄS, B.: Mechanism of Histamine release
in mast cells
Ann. N.Y. Acad. Sci. 103:278,
476 (1963)
77. WEIDENREICH, F.: Über die zelligen Elemente der
Lympe und der serösen Höhlen
In: Selye, H.: The mast cells
S. 87
Washington Butterworths
(1965)
78. WISLOCKI, G.B. and Some histochemical properties
FAWETT, D.W. of mast cells and tissue
eosinophils in stained spreaths
of normal rat mesentery
In: Selye, H.: The mast cells
S. 48
Washington Butterworths
(1965)
79. WITTEKIND, D.: Stoffaufnahme durch Monocyten
und Histiocyten
In: Brücher, H.: Der Monocyt
S. 60
J.F. Lehmanns Verlag München
(1969)
80. WLODARSKI, K.: The kinetics of mast cells in
lymph nodes of immunized
Mice
Immunolg. 24:47 (1973)
81. ZOLLINGER, H.H.: Gewebsmastzellen und Heparin
Experientia 6:384
(1950)

Unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

Für die Überlassung des Themas möchte ich Frau Prof. Boll meinen Dank aussprechen. Sie hat mir in steter Hilfsbereitschaft in vielen Gesprächen wertvolle Hinweise für die Durchführung meiner Dissertation gegeben.

Lebenslauf

Ich wurde am 10.1.1938 in München geboren. Nach der Grundschulausbildung absolvierte ich eine kaufmännische Lehre und war einige Jahre als kaufmännischer Angestellter tätig. Anschließend habe ich über den zweiten Bildungsweg die Hochschulreife erworben.

Dann folgte das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität in Berlin. Meine Medizinalassistentenzeit verbrachte ich im Städtischen Krankenhaus Neukölln. Davon war ich fünf Monate auf der Chirurgie und sieben Monate auf der II. Inneren Abteilung (Prof. Dr. Trautmann) angestellt. Nach der Medizinalassistentenzeit bin ich im gleichen Hause ungefähr zwei Jahre als Assistenzarzt in der Anästhesieabteilung tätig gewesen. Seit Mai 1975 bin ich als Assistenzarzt im Theodor-Wenzel-Krankenhaus in Berlin-Wannsee auf der Abteilung für Innere Medizin beschäftigt.

